



SKRIPSI-SK141501

**PENGARUH PENAMBAHAN BAKTERI
Ralstonia pickettii TERHADAP
BIODEGRADASI DDT OLEH JAMUR
PELAPUK PUTIH *Pleurotus eryngii***

**DEGA NURITA SARI
NRP 1412100022**

**Dosen Pembimbing I
Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D**

**Dosen Pembimbing II
Drs. Refdinal Nawfa, MS**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016**



SCRIPT-SK141501

**THE EFFECT OF ADDITION OF
BACTERIA *Ralstonia pickettii* ON
BIODEGRADATION OF DDT BY WHITE
ROT FUNGUS *Pleurotus eryngii***

**DEGA NURITA SARI
NRP 1412100022**

**Supervisor I
Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D**

**Supervisor II
Drs. Refdinal Nawfa, MS**

**DEPARTMENT OF CHEMISTRY
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016**

**PENGARUH PENAMBAHAN BAKTERI
Ralstonia pickettii TERHADAP
BIODEGRADASI DDT OLEH JAMUR
PELAPUK PUTIH *Pleurotus eryngii***

SKRIPSI

Disusun untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Sarjana Program Studi S-1
Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya

Disusun Oleh:

DEGA NURITA SARI
NRP 1412100022

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016**

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH PENAMBAHAN BAKTERI *Ralstonia picketti* TERHADAP BIODEGRADASI DDT OLEH JAMUR PELAPUK PUTIH *Pleurotus eryngii*

SKRIPSI

Disusun Oleh

DEGA NURITA SARI
NRP 1412100022

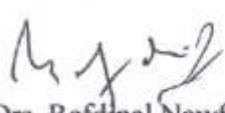
Surabaya, 20 November 2015

Menyetujui,


Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II


Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.
NIP. 19800724 200812 1 002


Drs. Refdinal Nawfa, MS
NIP.19580425 198701 1 001

Mengetahui :
Ketua Jurusan Kimia,


Prof. Dr. Didik Prasetyoko, S.Si., M.Sc.
NIP. 19710616 199703 1 002

PENGARUH PENAMBAHAN BAKTERI *Ralstonia pickettii* TERHADAP BIODEGRADASI DDT OLEH JAMUR PELAPUK PUTIH *Pleurotus eryngii*

Nama : Dega Nurita Sari
NRP : 1412 100 022
Jurusan : Kimia FMIPA - ITS
Dosen Pembimbing I : Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D
Dosen Pembimbing II : Drs. Refdinal, MS

Abstrak

Pengaruh penambahan bakteri *Ralstonia pickettii* terhadap biodegradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *Pleurotus eryngii* telah diteliti. *R. pickettii* ditambahkan ke dalam 10 mL kultur *P. eryngii* masing-masing sebanyak 1, 3, 5, 7 dan 10 ml ($1 \text{ ml} \approx 1,337 \times 10^9$ sel). Bakteri *R. pickettii* menghasilkan biosurfaktan untuk meningkatkan kelarutan DDT sehingga DDT dapat lebih mudah terdegradasi. Analisis degradasi DDT menggunakan HPLC dan Kromatografi GC-MS. Degradasi DDT tertinggi ditunjukkan pada penambahan 7 mL bakteri *R. pickettii* dengan jumlah degradasi sebesar 78,23 % sedangkan jumlah degradasi DDT terendah terjadi pada penambahan bakteri 5 ml dengan jumlah degradasi sebesar 36,17 %. Metabolit produk yang dihasilkan adalah DDE [1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethene] dan DDD [1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane].

Kata kunci: Biodegradasi, *Pleurotus eryngii*, *Ralstonia pickettii*, DDT, HPLC, Kromatografi GC-MS

THE EFFECT OF ADDITION OF BACTERIA *Ralstonia pickettii* ON BIODEGRADATION OF DDT BY WHITE ROT FUNGUS *Pleurotus eryngii*

Name : Dega Nurita Sari
NRP : 1412 100 022
Department : Kimia FMIPA - ITS
Supervisor I : Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D
Supervisor II : Drs. Refdinal Nawfa, MS

Abstract

Effect of addition of bacteria *Ralstonia pickettii* on biodegradation of DDT by white-rot fungus *Pleurotus eryngii* had been investigated. *R. pickettii* was added into 10 mL *P. eryngii* culture at 1, 3, 5, 7 and 10 ml (1 ml $\approx 1,337 \times 10^9$ cells). *R. picketti* bacteria produced biosurfactant to increased solubility DDT so that DDT could be easasier degraded. DDT degradation analysis used HPLC and Chromatography GC-MS. The addition of 7 ml of *R. pickettii* showed the highest DDT degradation about 78,23 %, while the addition of 5 mL of *R. picketii* showed the lowest one about 36,17 %. The type of metabolic product formed is DDE [1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethyene] and DDD [1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane].

Keywords: *Biodegradation, Pleurotus eryngii, Ralstonia pickettii, DDT, HPLC, Chromatography GC-MS*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga naskah skripsi yang berjudul **“Pengaruh Penambahan Bakteri *Ralstonia pickettii* Terhadap Biodegradasi DDT Oleh Jamur Pelapuk Putih *Pleurotus eryngii*”** dapat terselesaikan. Ucapan terimakasih terutama disampaikan kepada:

1. Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan naskah skripsi ini.
2. Drs. Refdinal Nawfa, MS. selaku Dosen Pembimbing II dan Kepala Laboratorium Kimia Mikroorganisme yang telah memberikan izin penggunaan laboratorium.
3. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, S.Si., M.Sc. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA ITS atas fasilitas dan pengarahan yang diberikan selama ini.
4. Almh. Dra. Sukesi, M.Si dan Drs. R. Djarot S.K.S., MS. selaku dosen wali atas arahan dan dukungannya.
5. Bapak Ganefo dan Ibu Dewi selaku orang tua yang selalu memberikan doa serta kasih sayang untuk saya.
6. Ekky dan Fayola selaku saudara perempuan yang selalu memberikan hiburan.
7. Sahabat 7 ikan, teman-teman SPECTRA dan anggota Laboratorium Mikroorganisme Kimia FMIPA yang selalu memberikan semangat dan bantuannya.

Semoga Skripsi ini memberikan manfaat, baik bagi penulis maupun pembaca dalam upaya menambah wawasan tentang ilmu kimia.

Surabaya, 11 Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	iv
ABSTRAK.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	3
1.5 Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pestisida	5
2.2 Klasifikasi Pestisida.....	6
2.3 Pestisida Organoklorin.....	7
2.4 DDT	8
2.5 Jamur Pelapuk Putih	9
2.6 Enzim yang Dihasilkan oleh Jamur Pelapuk Putih	9
2.7 Jamur <i>Pleurotus eryngii</i>	11
2.8 Bakteri <i>Ralstonia pickettii</i>	12
2.9 Bioremediasi	13
2.9.1 Faktor yang Mempengaruhi Bioremediasi.....	13
2.10 Biodegradasi DDT	14
2.11 Spektroskopi UV-Vis.....	16
2.12 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	17
2.13 Kromatografi Gas - Spektroskopi Massa	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	23

3.1 Alat dan Bahan.....	23
3.1.1 Alat.....	23
3.1.2 Bahan	23
3.2 Prosedur Kerja	23
3.2.1 Regenerasi Jamur <i>Pleurotus eryngii</i>	23
3.2.2 Persiapan Kultur Cair Jamur	24
3.2.3 Regenerasi Bakteri <i>Ralstonia pickettii</i>	24
3.2.4 Pembuatan Kurva Pertumbuhan <i>Ralstonia pickettii</i>	24
3.2.5 Persiapan Kultur Cair Bakteri	24
3.2.6 Biodegradasi DDT oleh <i>Pleurotus eryngii</i>	24
3.2.7 Biodegradasi DDT Oleh Bakteri <i>Ralstonia pickettii</i>	25
3.2.8 Pengaruh Penambahan <i>Ralstonia pickettii</i> Terhadap Biodegradasi DDT oleh <i>Pleurotus eryngii</i>	25
3.2.9 Recovery DDT	25
3.2.10 Pembuatan Kurva Standar DDT	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Kultur <i>Pleurotus eryngii</i>	27
4.1.1 Regenerasi jamur <i>Pleurotus eryngii</i>	27
4.1.2 Persiapan Kultur Cair Jamur <i>Pleurotus eryngii</i>	28
4.2 Kultur <i>Ralstonia pickettii</i>	28
4.2.1 Regenerasi <i>Ralstonia pickettii</i>	28
4.2.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Ralstonia pickettii</i>	29
4.2.3 Persiapan Kultur Cair <i>Ralstonia pickettii</i>	32
4.3 Kurva Standar DDT	32
4.4 Proses dan Hasil Biodegradasi.....	34
4.4.1 Biodegradasi DDT oleh <i>Pleurotus eryngii</i>	35
4.4.2 Biodegradasi DDT oleh <i>Ralstonia pickettii</i>	46
4.4.3 Optimasi Biodegradasi DDT Oleh <i>Pleurotus eryngii</i> dengan Penambahan <i>Ralstonia pickettii</i>	49
4.4.4 Jalur Degradasi	54
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	55

DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	61
BIODATA PENULIS	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur DDT	9
Gambar 2. 2 Jamur <i>Pleurotus eryngii</i>	12
Gambar 2. 3 Bakteri <i>Ralstonia pickettii</i>	12
Gambar 2. 4 Jalur Biodegradasi DDT	16
Gambar 2. 5 Komponen dasar instrumen spektroskopi UV- Vis.....	17
Gambar 2. 6 Komponen dasar instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	19
Gambar 2.7 Kromatogram HPLC Sampel Jamur	19
Gambar 2.8 Kromatogram GC sampel jamur <i>P. ostreatus</i>	21
Gambar 4.1 Kultur Jamur <i>P. eryngii</i>	28
Gambar 4.2 Kultur <i>R. pickettii</i>	29
Gambar 4.3 Kurva Pertumbuhan <i>R. pickettii</i>	31
Gambar 4.4 Kurva Standar DDT	33
Gambar 4.5 Kromatogram GC degradasi DDT oleh Jamur <i>P.</i> <i>eryngii</i>	38
Gambar 4.6 Spektra MS piren hasil analisis degradasi DDT oleh sampel Jamur <i>P. eryngii</i>	39
Gambar 4.7 Spektra MS Spektra MS piren dalam database	40
Gambar 4.8 Spektra MS DDE hasil analisis degradasi DDT oleh sampel Jamur <i>P. eryngii</i>	41
Gambar 4.9 Spektra MS DDE dalam database	42
Gambar 4.10 Spektra MS DDD hasil analisis degradasi DDT oleh sampel Jamur <i>P. eryngii</i>	43
Gambar 4.11 Spektra MS DDD dalam database	44
Gambar 4.12 Spektra MS DDA hasil analisis degradasi DDT oleh sampel Jamur <i>P. eryngii</i>	45
Gambar 4.13 Jumlah degradasi DDT oleh <i>R. pickettii</i>	46
Gambar 4.14 Kromatogram GC hasil analisis degradasi DDT	

	oleh bakteri <i>R. pickettii</i>	47
Gambar 4.15	Spektra MS DDE hasil analisis degradasi DDT oleh sampel bakteri <i>R. pickettii</i>	48
Gambar 4.16	Jumlah degradasi DDT oleh <i>P. eryngii</i> dengan penambahan bakteri <i>R. pickettii</i> dengan waktu inkubasi selama 7 hari.....	49
Gambar 4.17	Grafik Degradasi DDT oleh <i>P. eryngii</i> dengan Penambahan Bakteri <i>R. pickettii</i>	50
Gambar 4.18	Kromatogram GC hasil analisis degradasi DDT oleh Jamur <i>P. eryngii</i> dan Bakteri <i>R. pickettii</i>	51
Gambar 4.19	Spektra MS DDD hasil analisis degradasi DDT oleh Jamur <i>P. eryngii</i> dan Bakteri <i>R. pickettii</i>	52
Gambar 4.20	Spektra MS DDE hasil analisis degradasi DDT oleh Jamur <i>P. eryngii</i> dan Bakteri <i>R. pickettii</i>	53
Gambar 4.21	Jalur Degradasi DDT oleh <i>P. eryngii</i> , <i>R.</i> <i>pickettii</i> dan Campuran Keduanya.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Bahan aktif pestisida yang tidak bisa didaftarkan di Indonesia.....	6
Tabel 2.2 Klasifikasi pestisida organoklorin.....	7
Tabel 4.1 Data Kurva Standar DDT.....	33

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 SKEMA KERJA.....	61
LAMPIRAN 2 PERHITUNGAN	62
LAMPIRAN 3 DATA ANALISIS SAMPEL.....	65

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pestisida adalah salah satu hasil teknologi modern yang mempunyai peranan penting dalam meningkatkan kesejahteraan manusia. Sebagian besar petani masih menggunakan pestisida karena kemampuannya untuk memberantas hama dengan efektif. Bahkan, penggunaan pestisida di Indonesia dari tahun ke tahun terus meningkat. Pada tahun 1985, Indonesia diperkirakan menggunakan 10.000 ton pestisida dan meningkat menjadi 600.000 ton pada tahun 1991. Jumlah ini mencapai 5 % konsumsi dunia (Riza, 1994).

Beberapa jenis pestisida yang sering digunakan salah satunya adalah Insektisida. Insektisida adalah jenis pestisida untuk membasmi serangga. Oleh karena itu, banyak para petani menggunakan insektisida untuk memberantas hama tanaman. Praktek pengendalian hama menggunakan insektisida organik sintetik berkembang sejak Perang Dunia II yang di mulai dengan penggunaan diklorodifeniltrikloroetana (DDT).

Seorang kimiawan bernama Zeidler telah menemukan DDT pada tahun 1873 namun sifat DDT sebagai insektisida baru ditemukan oleh Paul Herman Moller pada tahun 1939. DDT dengan dosis kecil sudah mampu membunuh hampir semua jenis serangga dengan cara mengganggu sistem saraf mereka. Pada waktu itu, DDT dianggap sebagai alternatif murah dan aman sebagai jenis insektisida jika dibandingkan dengan senyawa insektisida lainnya yang berbasis arsenik dan raksa (Tarumingkeng, 1992).

Akan tetapi, pada tahun 1962 Rachel Carson dalam bukunya yang terkenal, “Silent Spring” menjuluki DDT sebagai obat yang membawa kematian bagi kehidupan di bumi. Demikian berbahayanya DDT bagi kehidupan di bumi sehingga EPA (*Environmental Protection Agency*) Amerika Serikat pada tahun 1972 merekomendasikan pelarangan penggunaan DDT sejak 1 Januari 1973. Pengaruh buruk DDT terhadap lingkungan sudah

mulai tampak sejak awal penggunaannya pada tahun 1940-an, ditandai dengan penurunan populasi burung elang sampai hampir punah di Amerika Serikat. Dari penelitian yang dilakukan menyimpulkan bahwa ternyata elang terkontaminasi DDT dari makanannya (terutama ikan sebagai mangsanya) yang tercemar DDT. DDT menyebabkan cangkang telur elang menjadi sangat rapuh sehingga rusak jika dieram. DDT digolongkan dalam bahan racun PBT (*persistent, bioaccumulative, and toxic*) (Sumarwoto, 1978). Oleh sebab itu diperlukan adanya metode dalam penanggulangan pencemaran DDT salah satunya dengan menggunakan metode biodegradasi.

Salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan dalam metode biodegradasi adalah jamur pelapuk putih. Kemampuan mikroorganisme khususnya jamur pelapuk putih dalam mendegradasi DDT karena kandungan enzim ligninolitik yang dimilikinya. Sistem enzim ini terdiri atas lignin peroksidase, versatile peroksidase, mangan peroksidase, dan lakase. Tiap-tiap jamur pelapuk putih memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam menghasilkan enzim tersebut (Pointing, 2001).

Salah satu jamur pelapuk putih yang mampu mendegradasi DDT adalah *Pleurotus eryngii*. Arisoy (1998) melaporkan bahwa *P. eryngii* mampu mendegradasi DDT sebesar 65,98 % dalam media Malt Ekstrak Agar (MEA). Sedang proses degradasi tersebut tergolong kurang maksimal sehingga dibutuhkan modifikasi kultur untuk meningkatkan kemampuan jamur dalam mendegradasi DDT. Salah satu cara untuk meningkatkan degradasi DDT adalah dengan penambahan mikroorganisme misalnya bakteri. Secara umum, bakteri dapat mendegradasi DDT secara aerob atau anaerob. Lal dan Saxena (1982) menyatakan bahwa secara umum bakteri yang diinkubasi secara aerob akan mendegradasi DDT melalui reaksi dehidroklorinasi dengan metabolit produk berupa DDE, sedang ketika diinkubasi secara anaerob, reaksi reduktif deklorinasi menjadi yang dominan dan menghasilkan DDD sebagai metabolit produk utama.

1.2 Rumusan Masalah

Biodegradasi DDT dengan jamur pelapuk putih sudah banyak dilakukan dimana salah satunya menggunakan jamur *P. eryngii*. *P. eryngii* mampu mendegradasi DDT sebanyak 65,98 % (Arisoy, 1998). Dilihat dari hasil tersebut, degradasi DDT masih kurang optimal dan masih membutuhkan waktu yang lama. Salah satu cara untuk mengoptimasi yaitu dengan penambahan bakteri *R. pickettii* merupakan bakteri yang dapat mendegradasi polutan xenobiotik seperti toluena dan trikloroetilena sebagai limbah industri. Penambahan bakteri tersebut diharapkan mampu mengoptimalkan biodegradasi DDT oleh *P. eryngii*.

1.3 Batasan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini dibatasi pada variasi konsentrasi bakteri *Ralstonia picketti* sebesar 1, 3, 5,7 dan 10 ml ($1 \text{ ml} \approx 1,2525 \times 10^9$ sel bakteri *Ralstonia picketti*/ml kultur) yang ditambahkan ke dalam 10 ml kultur *P. eryngii* untuk proses degradasi DDT dengan waktu inkubasi 7 hari. Variabel yang dianalisis adalah jumlah DDT yang terdegradasi dan identifikasi metabolik produk.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh penambahan bakteri *R. picketti* ke dalam kultur *P. eryngii* terhadap jumlah degradasi DDT.
2. Mengidentifikasi metabolit produk yang dihasilkan.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan data ilmiah mengenai pengaruh penambahan bakteri penghasil biosurfaktan *R. picketti* terhadap laju degradasi DDT oleh jamur *P. eryngii*.
2. Memberikan referensi yang actual untuk menangani masalah pencemaran DDT di lingkungan.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pestisida

Pestisida merupakan zat, senyawa kimia (zat pengatur tumbuh dan perangsang tumbuh), organisme renik, virus dan zat lain-lain yang digunakan untuk melakukan perlindungan tanaman atau bagian tanaman (SNI 7313:2008; Pedum Kajian Pestisida, 2012). Petani menggunakan pestisida untuk membasmi hama dan gulma dengan harapan hasil produk pertanian meningkat. Disamping dapat meningkatkan hasil produk pertanian, pestisida mempunyai dampak negatif seperti berkurangnya keanekaragaman hayati. Pestisida berspektrum luas dapat membunuh hama sasaran, parasitoid, predator, hiperparasit serta makhluk bukan sasaran seperti lebah, serangga penyerbuk, cacing dan serangga bangkai (Laba, 2010).

Pestisida dapat mengontaminasi pengguna secara langsung sehingga mengakibatkan keracunan. Dalam hal ini, keracunan bisa dikelompokkan menjadi 3 kelompok, yaitu keracunan akut ringan, keracunan akut berat dan kronis. Keracunan akut ringan menimbulkan pusing, sakit kepala, iritasi kulit ringan, badan terasa sakit dan diare. Keracunan akut berat menimbulkan gejala mual, menggigil, kejang perut, sulit bernapas keluar air liur, pupil mata mengecil dan denyut nadi meningkat. Selanjutnya, keracunan yang sangat berat dapat mengakibatkan pingsan, kejang-kejang, bahkan kematian (Quijano, et al 1999). Berdasarkan SK Menteri Pertanian RI No. 434.1/Kpts/TP.270/7/2001, tentang syarat dan tata cara pendaftaran pestisida, tercantum daftar bahan aktif pestisida yang dilarang didaftarkan di Indonesia sebagaimana ditunjukkan pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Bahan aktif pestisida yang tidak bisa didaftarkan di Indonesia.

1	2,3,5-T	19	HCH dan isomernya
2	2,4,5-T	20	Heptaklor
3	2,4,6-T	21	Kaptafol
4	Natrium bromodiklorofenol	22	Klordan
5	Aldikarb	23	Klordimefon
6	Aldrin	24	Leptofos
7	Arsonat (MSMA)	25	Lindan
8	Cyhexatin	26	Metoksiklor
9	DDT	27	Mevinfos
10	DBCP	28	Monosodium metam
11	Dieldrin		
12	Diklorofenol		
13	Dinoseb		
14	EPN		
15	Endrin		
16	Etilendibromid (EDB)		
17	Fosfor merah		
18	Halogen fenol		

2.2 Klasifikasi Pestisida

Pestisida dapat dibagi dalam beberapa jenis. Menurut Departemen Kesehatan RI Dirjen P2M dan PL 2000 dalam Meliala 2005, berdasarkan struktur kimianya pestisida dapat digolongkan menjadi golongan organochlorin misalnya DDT, dieldrin, endrin dan lain-lain. Golongan organophosfat misalnya diazonin dan basudin. Golongan carbamat termasuk baygon, bayrusil, dan lain-lain. Senyawa dinitrofenol misalnya morocidho 40EC. Piretroid misalnya difetrin, sipermetrin, fluvalinat, siflutrin, fenpropatrin, tralometrin, sihalometrin, flusitrinat. Fumigant misalnya chlorofikrin, etilendibromida, naftalen, metilbromida, formaldehid, fostin. Petroleum contohnya minyak bumi dan minyak tanah. Antibiotik misalnya senyawa kimia

seperti penisilin yang dihasilkan dari mikroorganisme ini mempunyai efek sebagai bakterisida dan fungisida.

2.3 Pestisida Organoklorin

Organoklorin atau disebut *Chlorinated hydrocarbon* terdiri dari beberapa kelompok yang diklasifikasi menurut bentuk kimianya. Yang paling populer dan pertama kali disintesis adalah “Dichloro-diphenyl-trichloroethan” atau disebut DDT. Klasifikasi Pestisida organoklorin ditunjukkan pada tabel 2.2.

Tabel 2.2. Klasifikasi pestisida organoklorin

Kelompok	Komponen
Cyclodienes	Aldrin, Chlordan, Dieldrin, Heptachlor, endrin, Toxaphen, Kepon, Mirex.
Hexachlorocyclohexan	Lindane
Derivat Chlorinated-ethan	DDT

Organoklorin merupakan polutan yang bersifat persisten dan dapat terbioakumulasi di alam serta bersifat toksik terhadap manusia dan makhluk hidup lainnya. Organoklorin tidak reaktif, stabil, memiliki kelarutan yang sangat tinggi di dalam lemak, dan memiliki kemampuan degradasi yang rendah (Ebichon dalam Soemirat, 2005).

Organoklorin termasuk ke dalam golongan pestisida yang ampuh, namun memiliki banyak dampak negatif terhadap lingkungan. Sebagai pestisida, sifat persistensinya sangat menguntungkan untuk mengontrol hama. Terdapat pula kemungkinan terjadinya bioakumulasi dan biomagnifikasi. Dikarenakan karakteristiknya yang sulit terbiodegradasi dan kelarutannya yang tinggi dalam lemak, organoklorin dapat terakumulasi dalam jaringan hewan yang prosesnya disebut biokonsentrasi. Biomagnifikasi dapat terjadi pada hewan yang terlibat dalam rantai makanan. Pestisida jenis ini masih digunakan di negara-negara berkembang, terutama di daerah khatulistiwa. Hal ini dikarenakan harganya yang sangat murah, keefektifannya, dan persistensinya. Kebanyakan negara berkembang terletak di

daerah yang beriklim tropis dimana pada umumnya memiliki temperatur dan curah hujan yang tinggi. Iklim yang seperti itu dapat membuat perpindahan residu melalui udara dan air secara cepat dan akhirnya berkontribusi terhadap kontaminasi global. Proporsi pestisida yang akan mencapai target, seperti hama, ditemukan tidak lebih dari 0,3% dari yang diaplikasikan, sedangkan 99% lainnya akan berada di lingkungan (Karina, 2002).

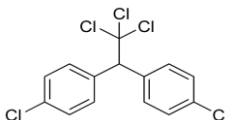
2.4 Diklorodifeniltrikloroetana (DDT)

Insektisida adalah bahan yang mengandung persenyawaan kimia yang digunakan untuk membunuh serangga. Insektisida sintetik pertama yang digunakan secara umum adalah senyawa-senyawa dinitro dan tiosianat. Penemuan paling penting yang mengawali penemuan-penemuan insektisida sintetik, adalah penemuan DDT oleh Zeidler pada tahun 1874. Namun sifat insektisidanya baru dapat diketahui pada tahun 1939 oleh Dr. Paul Muller di Swiss. Dapat dikatakan bahwa munculnya DDT merupakan revolusi dalam pengendalian atau pengelolaan hama. Secara kimia DDT tergolong dalam hidrokarbon berklor (Tarumingkeng, 1989).

DDT termasuk insektisida golongan organoklorin. Secara kimia organoklorin adalah senyawa yang tidak reaktif, persisten di tubuh organisme maupun lingkungan dan bekerja sebagai racun syaraf. Organoklorin mengandung karbon atau C (sehingga disebut organo), klor dan hidrogen serta bersifat apolar dan lipofilik (Tarumingkeng, 1989).

DDT berupa kristal putih, mempunyai susunan kimia yang stabil dengan daya residu yang lama (3-6 bulan). Bersifat tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik serta mudah diserap oleh minyak, oleh karena itu tidak baik menggunakan insektisida ini di tempat pemeliharaan sapi perah. Daya bunuhnya besar, tidak terlalu toksik untuk mamalia dan bersifat serba guna (*all purpose insecticide*). DDT digunakan untuk pemberantasan lalat, nyamuk, tuma, pinjal dan kutu busuk. Di Jawa Tengah dan Jawa Timur, pada tahun 1954 *Anopheles*

sundaicus telah dilaporkan resisten terhadap DDT dan pada tahun 1962 *Anopheles aconitus* juga dilaporkan resisten terhadap DDT (Gandahusada, dkk. 1996). Struktur DDT dapat ditunjukkan seperti gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur DDT

2.5 Jamur Pelapuk Putih

Jamur pelapuk putih diketahui memiliki kemampuan unik yang secara efisien mendegradasi lignin menjadi CO₂ dan air, dan meninggalkan warna putih dari selulosa (Cullen dan Kersten 1996). Hal ini dilakukan sebagai upaya untuk memperoleh akses terhadap polimer-polimer karbohidrat yang terdapat pada dinding sel tanaman dan menggunakannya sebagai sumber karbon dan energi. Jamur pelapuk kayu ini biasanya tidak hanya membentuk koloni pada sampah hasil hutan dan pohon-pohon yang tumbang, tetapi juga pada pohon yang masih hidup (Eriksson et al. 1990).

Jamur Pelapuk Putih (JPP) dari kelas basidiomikotina, merupakan organisme yang bekerja efisien dan efektif dalam proses delignifikasi. Proses delignifikasi ini dimulai saat JPP menembus dan membentuk koloni dalam sel kayu lalu mengeluarkan enzim yang berdifusi melalui lumen dan dinding sel. Jamur ini menyerang komponen lignin dari kayu hingga menyisakan selulosa dan hemiselulosa yang tidak terlalu berpengaruh. Akibatnya, terjadi penurunan kekuatan fisik kayu dan pembengkakan jaringan kayu (Hatakka et al, 1994). Contoh dari jamur pelapuk putih misalnya *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii* dan lain-lain.

2.6 Enzim yang Dihasilkan oleh Jamur Pelapuk Putih

Jamur pelapuk putih yang hidup pada bahan organik lignoselulosa mengeluarkan enzim ekstraselular yang bisa mendegradasi bahan tersebut sebagai nutrisinya, terutama lignin, sehingga disebut enzim ligninolitik. Sistem degradasi lignin pada

jamur pelapuk putih melibatkan kerja enzim ekstraseluler yang diproduksi sendiri oleh jamur tersebut. Ada tiga jenis enzim ekstraseluler yang diproduksi oleh jamur pelapuk putih yang bersifat tidak selektif namun efektif dalam menyerang lignin. Enzim-enzim tersebut ialah lignin peroksidase (LiP), mangan peroksidase (MnP) dan lakase (Lac) dan dikenal sebagai lignin modifying enzymes (LMEs). Jamur pelapuk putih tidak bisa menggunakan lignin sebagai sumber energinya, sehingga proses degradasi tersebut diduga sebagai suatu cara agar selulosa yang terdapat didinding sel dapat diakses oleh jamur pelapuk putih (Hatakka, 2001).

Enzim lakase (EC 1.10.3.2) merupakan enzim yang banyak mengandung tembaga oksidase dan mempunyai kemampuan untuk mengoksidasi senyawaan fenol. Lakase mengkonversi senyawaan fenol menjadi kuinin radikal dengan bantuan oksigen dan kemudian mengubahnya menjadi kuinon. Proses konversi ini juga menghasilkan beberapa substrat sampingan yang bermanfaat dalam proses degradasi. Lakase selain berperan dalam degradasi lignin (Hattaka 1994), juga berperan dalam proses pigmentasi, pembentukan badan buah, dan sporulasi pada JPP (Thurston 1994).

Enzim mangan peroksidase (MnP) (EC 1.11.1.13) juga merupakan enzim yang mengandung gugus heme peroksidase dan menggunakan H_2O_2 untuk mengkatalisis oksidasi dari Mn^{2+} ke Mn^{3+} , proses ini selanjutnya mengoksidasi kembali substrat fenol. Aktivitas MnP dirangsang oleh asam organik yang berfungsi sebagai pengkelat atau penstabil Mn^{3+} . Mekanisme reaksinya, pada keadaan awal mangan peroksidase dioksidasi oleh H_2O_2 membentuk MnP-senyawa I yang dapat direduksi oleh Mn^{2+} dan senyawa fenol membentuk MnP-senyawa II (Xianghua et al. 2007).

Enzim lignin peroksidase (LiP) (EC 1.11.1.14), tidak diproduksi oleh semua jamur pelapuk putih, namun merupakan komponen kunci bagi jamur tersebut. Enzim ini mengandung gugus heme dengan potensial redoks yang tinggi dan memerlukan dua jenis metabolit agar dapat berfungsi dengan baik. Kedua jenis

metabolit tersebut adalah hidrogen peroksida (H_2O_2) yang juga diperlukan oleh MnP dan veratril alkohol (VA) yang digunakan sebagai mediator dalam reaksi redoks. LiP mengoksidasi gugus metoksil pada cincin aromatik dan mampu bekerja dengan substrat yang memiliki potensial redoks yang cukup tinggi (Cullen dan Kersten 1996).

2.7 Jamur *Pleurotus eryngii*

Pleurotus eryngii adalah jamur pangan yang merupakan masih satu kerabat dengan jamur tiram. Di alam bebas, *P. eryngii* bisa ditemukan di wilayah padang rumput dan padang stepa yang kering di Eropa Selatan, Asia Selatan dan Asia Tengah. Nama binomial diambil dari nama tanaman *Eryngium*, karena jamur ini tumbuh di akar tanaman *Eryngium* yang sudah mati (Zervakis, 2001).

Di antara spesies jamur tiram (*Pleurotus*), *P. eryngii* merupakan spesies yang memiliki tubuh buah paling besar dan dapat bertahan sekitar 10 hari bila disimpan di lemari es. Daging batang tebal berwarna putih dengan tudung yang sempit (pada tubuh buah yang masih muda). Di Eropa, jamur ini sangat populer sebagai jamur pangan. Di Jepang dikenal sebagai jamur Eringi dan baru mulai dibudidayakan sejak tahun 1990-an. Klasifikasi taksonomi *P. eryngii* adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Fungi
Filum	: Basidiomycota
Kelas	: Homobasidiomycetes
Bangsa	: Agaricales
Keluarga	: Pleurotaceae
Marga	: Pleurotus
Jenis	: <i>Pleurotus. eryngii</i> (Zervakis, 2001)

Contoh Jamur *Pleurotus. Eryngii* dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Jamur *Pleurotus eryngii*

2.8 Bakteri *Ralstonia pickettii*

Ralstonia pickettii berbentuk *Proteobacteria* ditemukan di lingkungan lembab seperti tanah, sungai dan danau. Bakteri ini juga telah diidentifikasi berada didalam biofilm di pipa air plastik. Bakteri ini adalah organisme *oligotrophic*, sehingga mampu bertahan di daerah dengan konsentrasi nutrisi yang sangat rendah. Beberapa *strain* telah menunjukkan kemampuan untuk bertahan hidup di lingkungan yang sangat tercemar dengan logam. Kemampuan untuk bertahan dalam kondisi yang keras membuat *R. pickettii* unik untuk bioremediasi (Ryan, 2013).

Klasifikasi taksonomi *R. pickettii* adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Bakteri
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Beta Proteobacteria
Bangsa	: Burkholderiales
Keluarga	: Ralstoniaceae
Marga	: Ralstonia
Jenis	: <i>Ralstonia pickettii</i> (Ryan, 2013).

Contoh Bakteri *Ralstonia pickettii* dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Bakteri *Ralstonia pickettii*

2.9 Bioremediasi

Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme untuk mengurangi polutan di lingkungan. Saat bioremediasi terjadi, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut, sebuah peristiwa yang disebut biotransformasi. Pada banyak kasus, biotransformasi berujung pada biodegradasi, dimana polutan beracun terdegradasi, strukturnya menjadi tidak kompleks, dan akhirnya menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun (Suwanto, 1998).

Bioremediasi merupakan suatu teknologi inovatif pengolahan limbah, yang dapat menjadi teknologi alternatif dalam menangani pencemaran yang diakibatkan oleh kegiatan pertambangan di Indonesia. Bioremediasi ini teknik penanganan limbah atau pemulihan lingkungan, dengan biaya operasi yang relatif murah, serta ramah dan aman bagi lingkungan. Bioremediasi adalah proses pembersihan pencemaran tanah dengan menggunakan mikroorganisme (jamur, bakteri). Bioremediasi bertujuan untuk memecah atau mendegradasi zat pencemar menjadi bahan yang kurang beracun atau tidak beracun (karbon dioksida dan air) (Suwanto, 1998).

2.9.1 Faktor Yang Mempengaruhi Bioremediasi

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi efektivitas bioremediasi yaitu faktor lingkungan, fisik, dan kimia. Faktor lingkungan diperlukan untuk menyiapkan kondisi yang optimum pada pertumbuhan mikroorganisme yang akan mempengaruhi reaksi bioremediasi. Faktor lingkungan dapat berupa temperatur, pH, alkalinitas, nutrien, oksigen, dan kadar air. Faktor fisik yang mempengaruhi kinerja bioremediasi adalah ketersediaan kontaminan, keberadaan air, dan akseptor elektron. Sedangkan faktor kimia yang paling penting adalah struktur kimia kontaminan.

Aplikasi bioremediasi telah banyak diterapkan pada tiga jenis utama limbah berbahaya. Menurut U.S. EPA maka distribusi aktivitas bioremediasi dengan kategori kimiawi adalah 33% untuk

limbah perminyakan, 28% untuk creosote, 22% untuk larutan, 9% untuk pestisida, dan 8% untuk limbah lain-lain. Limbah lain-lain mencakup fasilitas industri yang bercampur dengan kontribusi kimia (Cookson, 1995).

2.10 Biodegradasi DDT

Biodegradasi yaitu pemecahan cemaran organik oleh aktivitas mikroba yang melibatkan serangkaian reaksi enzimatik. Umumnya terjadi karena senyawa tersebut dimanfaatkan sebagai sumber makanan (substrat). Biodegradasi adalah penguraian fisik pada substrat oleh aktivitas mikroorganisme dengan menghasilkan produk yang bermanfaat untuk manusia. Biodegradasi, misalnya, terjadi pada pembuatan makanan fermentasi dan minuman fermentasi tradisional yang kita kenal sehari-hari (tempe, tapai singkong atau tapai ketan, tauco, dan lain-lain). Penguraian juga terjadi pada bahan-bahan yang merupakan limbah, suatu proses yang kemudian melalui fermentasi oleh mikroorganisme menjadi produk yang bermanfaat. Sebagai contoh hasil fermentasi limbah padat yang dikenal di Indonesia, antara lain, tempe gembus, oncom tahu, tempe bungkil, oncom kacang tanah. Ada juga suatu produk dari bahan limbah untuk pembuatan kompos padat (*landfill*), atau protein sel tunggal dari limbah pertanian (Gandjar, 2006).

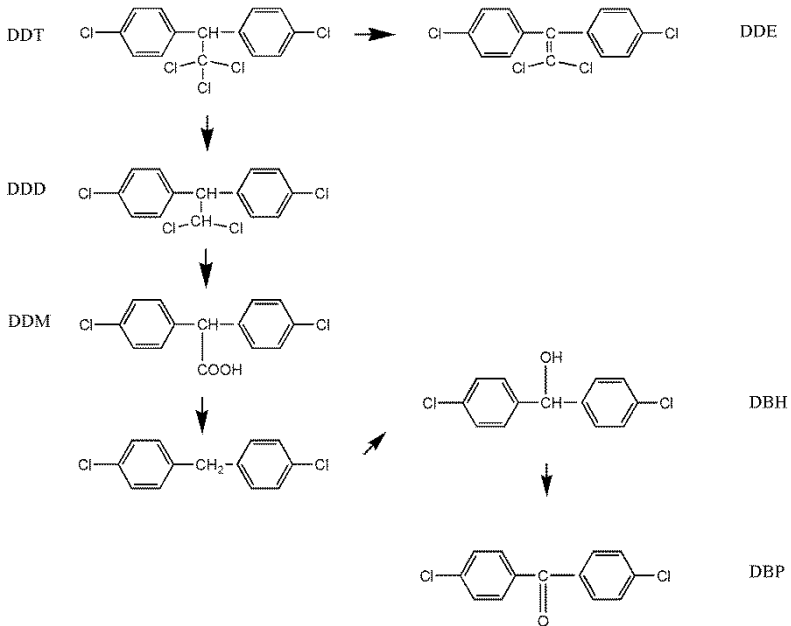
Degradasi mikrobial DDT dikatakan melukiskan fenomena ko-metabolisme, yaitu suatu fenomena di mana mikrobial memanfaatkan insektisida ini sebagai satu-satunya sumber karbon atau sumber energi untuk pertumbuhan dan perkembangbiakannya. Suatu teknik pemilihan kultur organisme tertentu digunakan untuk melihat pemecahan cincin benzennya dan diperoleh hasil bahwa ternyata organisme yang diisolasi rupanya tidak mampu mengakibatkan pemecahan pada cincin benzen, hanya menghilangkan satu karbonnya saja.

Suatu penelitian pada kultur *hydrogenomous sp* dilakukan terhadap difenilmetan, sebagai analog DDT, di mana difenilmetan sebagai satu-satunya sumber karbon. Enzim yang terdapat di dalamnya mempengaruhi oksidasi dan pemecahan satu cincin

benzen difenilmetan, dan asam fenil asetat ditemukan sebagai produk utama degradasinya. Sejumlah kecil fenilglioksida dan asam benzoat juga dihasilkan pada proses tersebut. Hasil penelitian ini relevan dengan metabolisme pestisida ketika dibandingkan dengan perolehan dalam ko-metabolisme DCM, metabolit yang diproduksi dalam biodegradasi DDT.

Penelitian Wedemeyer dan Alexander (1997) menunjukkan bahwa biodegradasi DDT dan metabolit DDT terjadi pada beberapa bakteri, dan jalur biodegradasi DDT dijelaskan seperti pada gambar 2.4. DDT secara umum diubah menjadi DDE, tetapi dengan munculnya bakteri mengawali reduksi deklorinasi kelompok triklorometil untuk membentuk DDD, yang dengan reaksi deklorinasi, oksidasi, dekarboksilasi, membentuk DDM, di mana DDM dapat berubah menjadi DBH atau DBP.

Selain bakteri, ada makhluk hidup lain yang juga ditemukan dapat melakukan biodegradasi terhadap DDT yaitu golongan fungi atau jamur. Subba-rao dan Alexander (1997) telah menunjukkan bahwa jalur degradasi DDT untuk beberapa fungi yang telah dipelajarinya hampir sama dengan jalur utama degradasi oleh bakteri (Bumpus, 1987). Salah satu jamur yang telah diteliti mengenai kemampuannya dalam mendegradasi DDT adalah jamur pelapuk putih *Pleurotus eryngii*. Arisoy (1998) melaporkan bahwa *P. eryngii* mendegradasi DDT sebanyak 65,98 % dalam media Malt Ekstrak Agar (MEA) yang diinkubasi selama 20 hari pada suhu 30⁰C dan pH 5 dengan konsentrasi DDT sebesar 50 µM.



Gambar 2.4 Jalur Biodegradasi DDT

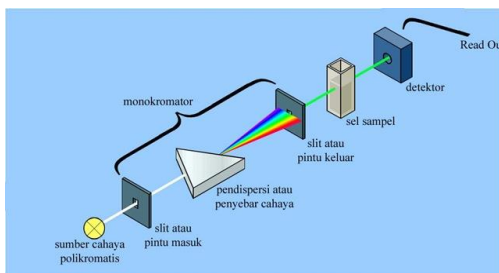
2.11 Spektroskopi UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan. Spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm.

Panjang gelombang (λ) adalah jarak antara satu lembah dan satu puncak, sedangkan frekuensi adalah kecepatan cahaya dibagi dengan panjang gelombang (λ). Bilangan gelombang

adalah (v) adalah satu satuan per panjang gelombang. (Dachriyanus, 2004).

Kebanyakan penerapan spektrofotometri UV-Vis pada senyawa organik didasarkan $n-\pi^*$ ataupun $\pi-\pi^*$ karena spektrofotometri UV-Vis memerlukan hadirnya gugus kromofor dalam molekul itu. Transisi ini terjadi dalam daerah spektrum (sekitar 200 ke 700 nm) yang nyaman untuk digunakan dalam eksperimen. Spektrofotometer UV-Vis yang komersial biasanya beroperasi dari sekitar 175 atau 200 ke 1000 nm. Identifikasi kualitatif senyawa organik dalam daerah ini jauh lebih terbatas daripada dalam daerah inframerah. Ini karena pita serapan terlalu lebar dan kurang terinci (Day & Underwood, 1986). Komponen instrumen spektroskopi UV-Vis dapat dilihat seperti gambar 2.5.



Gambar 2.5 Komponen dasar instrumen spektroskopi UV-vis

2.12 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi Cair Tenaga Tinggi (KCKT) atau biasa juga disebut dengan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. KCKT paling sering digunakan untuk : menetapkan kadar senyawa-senyawa tertentu seperti asam-asam amino, asam- asam nukleat, dan protein-protein dalam cairan fisiologis; menentukan kadar senyawa-senyawa aktif obat, produk hasil samping proses sintesis, atau produk-produk degradasi dalam sediaan farmasi (Shafaati, 1996).

Pada HPLC terdapat kolom terbuka yaitu :

1. Low pressure (tekanan rendah)
2. High pressure (tekanan tinggi 76 bar biasanya memakai satuan kpa/kilo paskal).

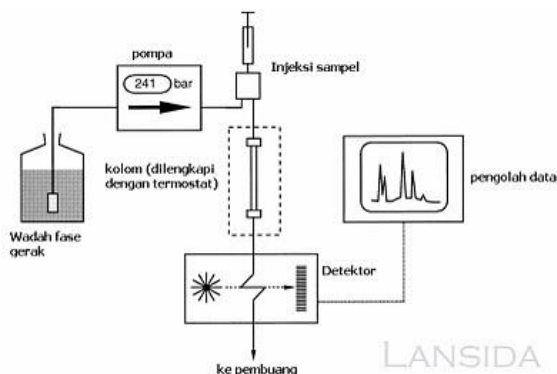
Pada HPLC terdapat oven untuk pemanas karena pada partikel kecil, cairan ditekan terjadi gesekan maka digunakan pendingin dan tekanan tinggi (cairan ditekan menggunakan pompa kemudian didorong, jika ditarik cairan masuk). Tekanan harus 76 bar, antara fase diam dan fase gerak terjadi gesekan sehingga temperatur meningkat maka harus diturunkan (dengan pendingin liebig/ ion exchange) karena ikatannya bisa lepas dan bisa juga terjadi bleeding. Temperatur pada HPLC digunakan untuk menjaga temperatur dalam kolom konstan sehingga KD tetap (Mulja, 1995).

Kerja HPLC pada prinsipnya adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya, alatnya terdiri dari kolom (sebagai fasa diam) dan larutan tertentu sebagai fasa geraknya. Yang paling membedakan HPLC dengan kromatografi lainnya adalah pada HPLC digunakan tekanan tinggi untuk mendorong fasa gerak. Campuran analit akan terpisah berdasarkan kepolarannya, dan kecepatannya untuk sampai ke detektor (waktu retensinya) akan berbeda, hal ini akan teramati pada spektrum yang puncak-puncaknya terpisah. Urutan skala polaritas : golongan fluorocarbon < golongan hidrokarbon < senyawa terhalogenasi < golongan eter < golongan ester < golongan keton < golongan alkohol < golongan asam (Sastrohamidjojo, 2005). Kromatografi cair kinerja tinggi terdiri dari beberapa komponen penting sebagai berikut

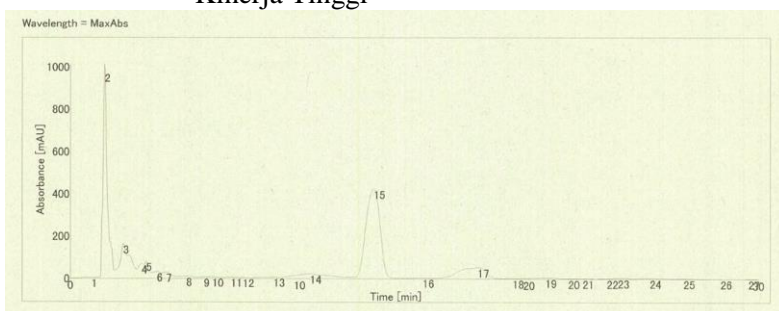
- Eluen, berfungsi sebagai fase gerak yang akan membawa sampel ke dalam kolom pemisah.
- Pompa, berfungsi untuk mendorong eluen dan sampel agar dapat masuk ke dalam kolom.
- Injektor, berfungsi untuk memasukkan sampel yang akan didistribusikan ke dalam kolom.
- Kolom pemisah ion, berfungsi untuk memisahkan ion-ion yang terdapat pada sampel.

- Detektor, berfungsi untuk membaca ion yang lewat ke dalam detektor.
- Rekorder, berfungsi untuk merekam dan mengolah data yang masuk (Weiss, 1995)

Berikut merupakan gambar komponen dasar instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (gambar 2.6) dan gambar kromatogram HPLC sampel jamur (gambar 2.7) :



Gambar 2.6 Komponen dasar instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi



Gambar 2.7 Kromatogram HPLC sampel jamur

2.13 Kromatografi Gas - Spektroskopi Massa

Kromatografi Gas - Spektroskopi massa merupakan metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan dua metode analisis senyawa yaitu kromatografi gas (GC) untuk

menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif dan spektrometri massa (MS) untuk menganalisis struktur molekul senyawa analit(Pavia,2006).

Gas kromatografi merupakan salah satu teknik spektroskopi yang menggunakan prinsip pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi komponen-komponen penyusunnya. Gas kromatografi biasa digunakan untuk mengidentifikasi suatu senyawa yang terdapat pada campuran gas dan juga menentukan konsentrasi suatu senyawa dalam fase gas(Pavia,2006).

Spektroskopi massa adalah suatu metode untuk mendapatkan berat molekul dengan cara mencari perbandingan massa terhadap muatan dari ion yang muatannya diketahui dengan mengukur jari-jari orbit melingkarnya dalam medan magnetik seragam(Pavia,2006).

Penggunaan kromatografi gas dapat dipadukan dengan spektroskopi massa. Paduan keduanya dapat menghasilkan data yang lebih akurat dalam pengidentifikasian senyawa yang dilengkapi dengan struktur molekulnya(Pavia,2006).

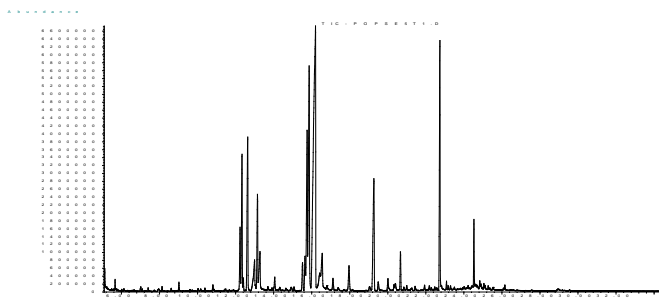
Saat GC dikombinasikan dengan MS, akan didapatkan sebuah metode analisis yang sangat bagus. Peneliti dapat menganalisis larutan organik, memasukkannya ke dalam instrumen, memisahkannya menjadi komponen tinggal dan langsung mengidentifikasi larutan tersebut. Selanjutnya, peneliti dapat menghitung analisa kuantitatif dari masing-masing komponen(Fowlis,1998).

Pada metode analisis GCMS (Gas Cromatografy Mass Spektroskopy) adalah dengan membaca spektra yang terdapat pada kedua metode yang digabung tersebut. Pada spektra GC jika terdapat bahwa dari sampel mengandung banyak senyawa, yaitu terlihat dari banyaknya puncak (peak) dalam spektra GC tersebut. Berdasarkan data waktu retensi yang sudah diketahui dari literatur, bisa diketahui senyawa apa saja yang ada dalam sampel.

Selanjutnya adalah dengan memasukkan senyawa yang diduga tersebut ke dalam instrumen spektroskopi massa. Hal ini dapat dilakukan karena salah satu kegunaan dari kromatografi gas

adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa dari suatu sampel. Setelah itu, didapat hasil dari spektra spektroskopi massa pada grafik yang berbeda.

Informasi yang diperoleh dari kedua teknik ini yang digabung dalam instrumen GC/MS adalah tak lain hasil dari masing-masing spektra. Untuk spektra GC, informasi terpenting yang didapat adalah waktu retensi untuk tiap-tiap senyawa dalam sampel. Sedangkan untuk spektra MS, bisa diperoleh informasi mengenai massa molekul relatif dari senyawa sampel tersebut (Douglas,1991). Contoh kromatogram GC dapat dilihat pada gambar 2.8.



Gambar 2.8 Kromatogram GC sampel jamur *P. ostreatus*
(Ashari, 2014)

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III METODOLOGI

3.1. Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan dan instrumen yang digunakan dalam penelitian ini yaitu erlenmeyer berpenutup, gelas beker, neraca digital, corong buchner, corong pisah, labu bundar, corong kaca, jarum ose, cawan steril, botol ampul, suntikan, pompa penyedot, *ultrasonic cleaner*, evaporator, *autoclave*, *autosacker*, filter Whatman 0,2 μm diameter 90 mm, tabung falcon, homogenizer, inkubator, HPLC (Jasco, Japan) dengan intelligent pump PU-1580 (Jasco, Japan), multiwavelength detector LG 1580-02 (Jasco, Japan), dan autosampler AS-950 (Jasco, Japan) serta kolom inertsil ODS-3 (150 mm) dengan diameter dalam 4.6 mm (GL Sciences, Japan) serta UV-Vis, dan GC-MS merk Agilent Technologies 5975C inert XL MSD.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bakteri *Ralstonia pickettii* diambil dari koleksi laboratorium mikroorganisme Kimia FMIPA ITS, jamur *Pleurotus Eryngii* diambil dari koleksi laboratorium mikroorganisme Kimia FMIPA ITS, dikloro difenil trikloroetan (DDT), potato dextrose agar (PDA) dari Merck, potato dextrose broth (PDB) dari Becton Dickinson, nutrient borth (NB) dari Merck, nutrient agar (NA) dari Merck, aseton dari PT. Smart Lab Indonesia, aqua DM, piren, metanol dari Merck, n-heksana dari Fulltime, dan Na_2SO_4 anhidrat dari Merck.

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Regenerasi Jamur *Pleurotus eryngii*

Jamur pelapuk putih dari spesies *P. eryngii* digunakan pada penelitian ini. Jamur *P. eryngii* diinokulasi ke dalam cawan petri yang berisi medium agar steril (PDA) dan diinkubasi pada

suhu 30°C selama kurang lebih 7 hari sampai seluruh permukaan medium agar tertutupi miselium.

3.2.2 Persiapan Kultur Cair Jamur

Miselium jamur hasil regenerasi (diameter 1 cm) diinokulasikan ke dalam 10 ml PDB medium dalam labu erlenmeyer 100 mL dan dipre-inkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari.

3.2.3 Regenerasi Bakteri *Ralstonia pickettii*

Bakteri *R. pickettii* digunakan pada penelitian ini. Bakteri diinokulasi kedalam cawan petri yang berisi medium agar (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.2.4 Pembuatan Kurva Pertumbuhan *Ralstonia pickettii*

Sebanyak 1 koloni bakteri hasil regenerasi diinokulasi ke dalam erlenmeyer yang berisi media nutrient broth (NB). Kultur diinkubasi pada suhu 37°C dan dikocok kecepatan 180 rpm menggunakan shaker incubator.

Optical density diukur pada panjang gelombang 600 nm (OD_{600}) dengan spektrofotometri UV-Vis tiap 1 jam sekali. Kurva dibuat dengan absorbansi sebagai fungsi waktu.

3.2.5 Persiapan Kultur Cair Bakteri

Sebanyak satu koloni bakteri yang terbentuk dari hasil regenerasi diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi media nutrient broth (NB) dan dipre-inkubasi pada suhu 37°C selama 30 jam dan dikocok dengan kecepatan 180 rpm.

3.2.6 Biodegradasi DDT oleh Jamur *Pleurotus eryngii*

Kultur *P. eryngii* hasil pre-inkubasi selama 7 hari ditambah 50 μ L dari DDT 5 mM. Masing-masing kultur kemudian ditambahkan PDB hingga volume total kultur 20 mL. Tiap erlenmeyer diberi oksigen hingga jenuh dan ditutup sumbat kaca serta diselotip menggunakan parafilm untuk mencegah

penguapan DDT. Kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C. Dilakukan *recovery* seperti pada metode 3.2.9.

3.2.7 Biodegradasi DDT oleh Bakteri *Ralstonia pickettii*

Erlenmeyer yang telah berisi 10 mL PDB ditambahkan bakteri hasil pre-inkubasi selama 30 jam masing-masing sebanyak 1, 3, 5, 7, dan 10 mL. Tiap labu erlenmeyer ditambah 50 µL DDT dari DDT 5mM. Kemudian ditambahkan media hingga volume total kultur 20 mL. Tiap labu diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C. Sebagai kontrol dilakukan degradasi DDT menggunakan kultur bakteri yang telah dinonaktifkan. Dilakukan *recovery* seperti pada metode 3.2.9.

3.2.8 Pengaruh Penambahan *R. pickettii* terhadap Biodegradasi DDT oleh *P. eryngii*

Kultur jamur hasil pre-inkubasi, ditambah dengan kultur *R. pickettii* masing-masing 1, 3, 5, 7, dan 10 ml. Masing-masing kultur ditambah 50 µL DDT dari DDT 5 mM. Kemudian ditambahkan media PDB hingga volume total kultur 20 mL. Tiap labu diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C. Dilakukan *recovery* seperti pada metode 3.2.9.

3.2.9 Recovery DDT

Kultur hasil inkubasi biodegradasi DDT oleh jamur, bakteri dan campuran masing-masing ditambah 50 uL piren dan 20 mL metanol. Selanjutnya sampel tersebut dipindah ke tabung falcon dan dicuci dengan 5 mL aseton. Kemudian, sampel dalam tabung falcon dihomogenkan menggunakan homogenezer. Sampel yang telah dihomogenkan, disaring menggunakan kertas saring whatman 41 diameter 90 mm. Setelah miselium tersaring, filtrat ditampung kembali dan dimasukkan ke dalam labu bundar, sedangkan residu yang terdapat pada kertas saring dikeringkan dan ditimbang untuk mengetahui banyaknya biomassa.

Filtrat yang ditampung di dalam labu bundar dievaporasi pada suhu 64°C hingga volume mencapai 15 mL. Setelah dievaporasi, sampel dituang ke dalam corong pisah. Labu bundar tempat sampel dicuci dengan 50 mL air dan 50 mL n-heksana sebanyak 2 kali kemudian dishaker selama 15 menit. Fase aquos dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam labu bundar, sedangkan untuk fase organik dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer.

Fase aquos dalam labu bundar dimasukkan kembali ke dalam corong pisah. Labu bundar dicuci dengan air, n-heksana (120 mL), kemudian digoyang dengan *shaker* selama 15 menit. Fase aquos dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam labu bundar untuk proses penyaringan berikutnya, sedangkan untuk fase organik dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Fase organik disaring menggunakan kapas dan Na₂SO₄ anhidrat. Filtrat dievaporasi sampai pada suhu 67°C hingga volume mencapai 5 mL. Filtrat diambil 2 mL dan dimasukkan ke dalam vial. Sampel ini dianalisa menggunakan GC-MS. Sisa filtrat dievaporasi kembali sampai kering dan ditambahkan 2 mL metanol. Filtrat dihomogenkan sampai larut dan dimasukkan ke dalam vial. Sampel ini dianalisa menggunakan HPLC.

3.2.10 Pembuatan Kurva Standar DDT

Larutan DDT disiapkan dengan konsentrasi 25, 50, 100% (100% = 0,25 µmol DDT yang berasal dari 50 µL DDT 5 mM). Masing-masing konsentrasi DDT ditambahkan dengan 50 µL piren 5 mM sebagai internal standar. Sampel dianalisa menggunakan HPLC dengan fasa gerak metanol 82 %. Dibuat kurva dengan nilai perbandingan luas area puncak DDT/piren sebagai fungsi konsentrasi DDT.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kultur *Pleurotus eryngii*

4.1.1 Regenerasi Jamur *P. eryngii*

Pada penelitian ini jamur *P. eryngii* diregenerasi terlebih dahulu untuk mencegah kematian karena habisnya nutrisi pada media yang lama. Regenerasi *P. eryngii* dilakukan dengan cara menginokulasikan jamur ke media baru. *P. eryngii* diinokulasi menggunakan jamur ose kedalam cawan petri yang berisi media agar steril *Potato Dextrose Agar* (PDA). Pemilihan PDA sebagai media inokulasi karena PDA memiliki kandungan nutrisi yang lengkap dan sesuai yang dibutuhkan oleh jamur yang terdiri dari ekstrak kentang dan dekstroza. Dalam 100 gram kentang mengandung protein (2 g), lemak (0,1 g), karbohidrat (19,1 g), kalsium (11 mg), fosfor (56 mg), serat (0,3 g), zat besi (0,7 mg), vitamin B1 (0,09 mg), vitamin B2 (0,03 mg), vitamin C (16 mg), niasin (1,4 mg) dan energi (83 kal) (Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, 1997). Protein digunakan sebagai sumber nitrogen yang akan dipecah menjadi asam amino untuk menghasilkan protein, enzim dan energi bagi sel (Volk dan Wheeler, 1993). Dextrose digunakan sebagai sumber karbon untuk menghasilkan energi. Unsur mineral seperti unsur makro (K, Ca, Mg, Na) dan unsur mikro (Mn, Co, Cu, Al) berfungsi sebagai pengatur tekanan osmose, kadar ion hidrogen dan permeabilitas suatu media serta sebagai kofaktor enzim (Sumarsih, 2003). Unsur fosfor dibutuhkan sebagai komponen ATP, asam nukleat dan sejumlah koenzim seperti NAD, NADP dan flavin (Bimbi, 2012). Vitamin B kompleks digunakan sebagai koenzim dan katalisator (Ashari, 2014). Agar-agar digunakan untuk memadatkan media. PDA yang digunakan harus sudah diautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit karena pada suhu tersebut semua mikroorganisme beserta spora dan hifanya termasuk yang bersifat termofilik dapat mati (Yonidwita, 2012).

Inokulasi jamur dilakukan di *laminary air flow* untuk menghindari terjadinya kontaminasi. Jamur yang telah diinokulasi

kemudian di inkubasi pada suhu 30°C dalam ruangan gelap untuk mengoptimalkan pertumbuhan miselium jamur. Miselium yang telah penuh menunjukkan bahwa jamur hasil regenerasi telah siap untuk diberikan perlakuan selanjutnya sebagaimana ditunjukkan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Kultur jamur *P. eryngii*

4.1.2 Persiapan Kultur Cair Jamur *Pleurotus eryngii*

Kultur *P. eryngii* hasil regenerasi diinokulasikan dengan menggunakan jarum ose berdiameter 1 cm ke dalam erlenmeyer yang berisi 20 mL media *Potato Dextrose Broth* (PDB) sebagai media cair karena PDB mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh jamur. Kultur *P. eryngii* kemudian dipre-inkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C agar kultur dapat beradaptasi dengan media yang digunakan dan miselium jamur dapat tumbuh maksimal sebelum ditambahkan DDT. Setelah masa inkubasi selama 7 hari, didapatkan miselium *P. eryngii* yang telah siap untuk ditambahkan DDT.

4.2 Kultur *Ralstonia pickettii*

4.2.1 Regenerasi *Ralstonia pickettii*

Penelitian ini menggunakan bakteri *R. pickettii* yang didapat dari koleksi bakteri Laboratorium Mikroorganisme Kimia ITS Surabaya. Bakteri *R. pickettii* diinokulasikan menggunakan jarum ose steril secara zig zag ke dalam cawan petri yang berisi Nutrient Agar (NA). Pemilihan NA sebagai media agar karena NA mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri selama pertumbuhan. NA terdiri dari ekstrak daging, pepton, NaCl dan agar. Pepton digunakan sebagai sumber nitrogen yang kaya akan

nitrogen sederhana bebas. Vitamin B kompleks digunakan sebagai koenzim dan katalisator (Ashari, 2014). Ekstrak daging sebagai zat hara untuk menyediakan karbohidrat, protein, vitamin B kompleks dan garam mineral (Sigmaaldrich, 2010). Karbohidrat merupakan sumber karbon yang akan menghasilkan energi yang dibutuhkan oleh bakteri selama pertumbuhan. NaCl sebagai penyedia unsur mikro (natrium), selain juga sebagai faktor yang dapat menaikkan tekanan osmosis dan keseimbangan psikokimia pada sel bakteri. Agar-agar adalah sebagai aditif untuk memadatkan media (Sutarma, 2000). Bakteri yang telah diinokulasi kemudian di inkubasi pada suhu 37°C, dimana suhu ini merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri secara umum termasuk juga untuk *R. pickettii* (Mayasari, 2005). Proses inokulasi bakteri dilakukan di *laminary air flow* untuk menghindari terjadinya kontaminasi. Setelah inkubasi selama 24 jam, diperoleh bakteri hasil kulturasi yang telah membentuk koloni-koloni, hal ini menandakan bakteri hasil kulturasi telah siap untuk diberi perlakuan selanjutnya sebagaimana ditunjukkan pada gambar 4.2.



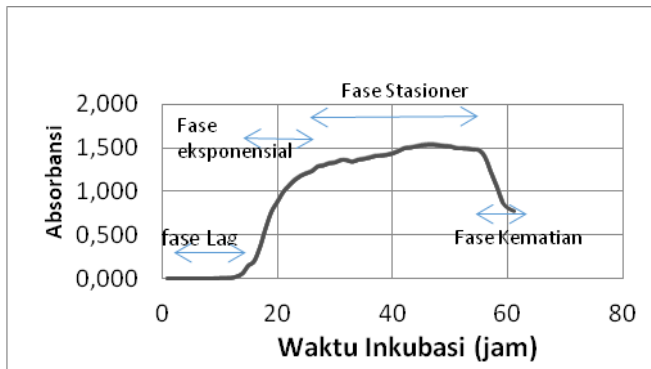
Gambar 4.2 Kultur *R. pickettii*

4.2.2. Kurva Pertumbuhan *Ralstonia pickettii*

Pertumbuhan merupakan proses bertambahnya ukuran atau substansi atau masa zat suatu organisme. Pada organisme bersel satu pertumbuhan lebih diartikan sebagai pertumbuhan koloni, yaitu pertambahan jumlah koloni, ukuran koloni yang semakin besar atau substansi atau massa mikroba dalam koloni tersebut semakin banyak, pertumbuhan pada mikroba diartikan sebagai pertambahan jumlah sel mikroba itu sendiri

(Dwidjoesepuro, 1998). Pertumbuhan pada sel bakteri secara umum, mengikuti suatu pola pertumbuhan tertentu berupa kurva pertumbuhan sigmoid (Gambar 4.3). Perubahan gradien pada kurva berarti perubahan fase pada perkembangan bakteri. Mengacu pada kurva, pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi empat fase utama, yaitu fase lag (fase pertumbuhan secara lambat), fase pertumbuhan eksponensial (fase pertumbuhan dengan cepat/jumlah pertumbuhan > jumlah kematian individu bakteri), fase stasioner (fase tetap/jumlah pertumbuhan = jumlah kematian individu bakteri) dan fase penurunan/kematian (fase pengurangan jumlah bakteri/jumlah pertumbuhan < jumlah kematian individu bakteri). Fase-fase diatas menunjukkan kondisi kultur bakteri pada saat-saat tertentu. Pada tiap fase terdapat periode peralihan dimana terdapat rentang waktu sebelum semua sel memasuki fase yang baru (Kusnadi, 2012).

Pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan menginokulasikan 1 koloni *R. pickettii* hasil regenerasi ke dalam media Nutrient Broth (NB) steril yang telah dimasukkan dalam tabung steril, yang kemudian diinkubasi dalam *shacker* pada suhu 37°C . Tujuan dari inokulasi pada media NB adalah agar sel bakteri dari media padat dapat beradaptasi pada media cair. Perhitungan jumlah bakteri dilakukan dengan metode turbidimetri. Metode ini mendasar pada peningkatan kekeruhan / *optical density* (OD) dalam kultur bakteri karena disebabkan oleh peningkatan jumlah bakteri atau dapat juga terjadi karena ukuran bakteri dalam kultur semakin besar. Kurva pertumbuhan *R. picketti* dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Kurva Pertumbuhan *R. pickettii*

Prinsip umum dari alat turbidimeter adalah sebagian sinar yang datang mengenai suatu partikel akan diteruskan dan sebagian lain dipantulkan, dimana sinar yang diteruskan digunakan sebagai dasar pengukuran. Jumlah absorbansi berbanding lurus dengan jumlah sel bakteri, atau jumlah sel berbanding terbalik dengan jumlah cahaya yang diteruskan. Semakin sedikit cahaya yang diteruskan, hal itu berarti semakin banyak jumlah sel bakteri. Metode turbidimetri ini dilakukan dengan mengukur absorbansi kultur cair *R. pickettii* setiap 1 jam sekali selama 48 jam dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Penggunaan panjang gelombang berdasarkan warna kultur bakteri. panjang gelombang 420 nm digunakan pada kultur tak berwarna, panjang gelombang 540 nm digunakan pada kultur dengan warna kuning terang, dan panjang gelombang antara 600-625 digunakan pada kultur berwarna kuning sampai kecoklatan (Brodham, 2007). Nilai absorbansi dapat menunjukkan jumlah bakteri berdasarkan perbandingan absorbansi pada OD dengan panjang gelombang 600 nm (OD_{600}) dari bakteri *Escherichia coli* dimana :

Absorbansi 1 $\approx 1 \times 10^9$ sel/ml kultur

≈ 1 mg/ml or 1 g/liter berat basah sel

≈ 0.25 g/liter berat kering sel

(<http://www.exptec.com/Expression%20Technologies/Bacteria%20growth%20media.htm>)

Kurva pertumbuhan (Gambar 4.3) diatas, menunjukkan *R. pickettii* mengalami 4 fase dalam perkembangannya, yaitu fase lag pada 0-12 jam inkubasi, fase eksponensial pada 13-29 jam inkubasi, fase stasioner pada 30-46 jam inkubasi, dan mulai pada fase kematian sekitar 47-61 jam inkubasi. Dari hasil tersebut dapat ditentukan bahwa waktu untuk memanen bakteri *R. pickettii* dilakukan ketika peralihan antara fase eksponensial dengan fase stasioner, yaitu setelah 30 jam masa inkubasi.

4.2.3. Persiapan Kultur Cair *Ralstonia pickettii*

Koloni *R. pickettii* yang terbentuk dari hasil regenerasi, diambil satu koloni dan diinokulasi ke dalam media cair nutrient broth (NB) yang telah disterilkan. Kultur bakteri tersebut dipre-inkubasi pada *shacker* dengan suhu lingkungan 37°C selama 30 jam, inkubasi selama 30 jam mengacu pada kurva pertumbuhan *R. pickettii*. Kurva pertumbuhan menunjukkan bahwa *R. pickettii* memasuki fase peralihan antara eksponensial dan stasioner (*late exponential phase*) setelah 30 jam masa inkubasi. Fase ini merupakan suatu keadaan seimbang antara laju pertumbuhan dengan laju kematian, sehingga jumlah keseluruhan bakteri yang hidup akan tetap. Beberapa bakteri biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti antibiotika dan polimer pada fase ini. Selain itu proses produksi enzim dan biosurfaktan mengalami optimalisasi pada fase ini. Proses pengocokan selama inkubasi berguna untuk meningkatkan kadar oksigen terlarut dalam media, karena *R. pickettii* merupakan jenis bakteri aerob. Pengocokan juga berfungsi untuk meratakan persebaran bakteri dalam media pertumbuhan, sehingga jumlah bakteri relatif sama per satuan volume pada semua bagian media ketika diambil untuk dilakukan perlakuan selanjutnya.

4.3 Kurva Standar DDT

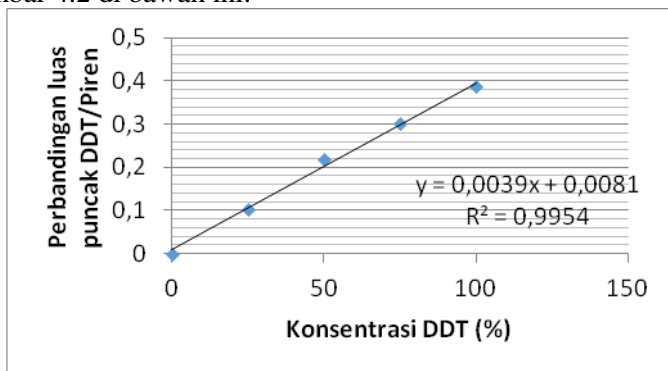
Kurva standar DDT merupakan hasil plot nilai perbandingan luas puncak DDT/pirena dan konsentrasi larutan standar. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan mengukur luas puncak DDT/piren dengan variasi konsentrasi larutan standar

0, 25, 50, 75 dan 100% (100 % = 0,25 μ mol DDT yang berasal dari DDT 5 mM) menggunakan HPLC dengan fasa gerak metanol 82 % dan air 18 %. Hasil analisis ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Data kurva standar DDT

Konsentrasi (%)	Luas Puncak DDT	Luas Puncak Piren	Perbandingan Luas Puncak DDT/Piren
0	0	0	0
25	7894,8	8212,8	0,104
50	79824,9	17472,9	0,2185
75	78336,4	23601,5	0,301
100	75547,9	29219,5	0,387

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat dibuat grafik seperti pada Gambar 4.2 di bawah ini.



Gambar 4.4 Kurva Standar DDT

Kurva standar tersebut menunjukkan persamaan regresi linier yaitu $y = 0,004x$, dimana x adalah konsentrasi DDT dan y merupakan perbandingan luas puncak DDT/piren. Persamaan regresi tersebut digunakan sebagai acuan dalam penentuan konsentrasi DDT pada sampel. Dalam penentuan hubungan linier kesempurnaan antara konsentrasi larutan standar DDT dan perbandingan luas puncak DDT/piren dari kurva standar dapat

diketahui dari nilai koefisien korelasi (r). Koefisien korelasi merupakan hubungan antara dua variabel yang memiliki rentang nilai antara -1 dan 1. Jika variabel keduanya memiliki hubungan linier sempurna/kuat, koefisien korelasinya akan bernilai 1 atau -1. Tanda positif/negatif menunjukkan apakah variabel tersebut memiliki hubungan positif atau negatif. Jika koefisien korelasi bernilai 0 maka tidak terdapat hubungan yang linier antara kedua variabel. Dari hasil perhitungan diperoleh nilai koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,9942; karenanya variabel konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren dari kurva standar dari percobaan memiliki hubungan linear sangat kuat.

Selanjutnya dilakukan uji signifikansi koefisien korelasi (uji t) untuk mengetahui signifikansi hubungan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren serta untuk mengetahui kelayakan persamaan regresi dari kurva standar yang ada dalam penentuan konsentrasi DDT dalam sampel dengan tingkat signifikansi $\alpha \leq 0,005$ (dengan selang kepercayaan 99,5 %). H_0 menyatakan tidak ada hubungan secara signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren. Sedangkan H_1 menyatakan ada hubungan secara signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren. Dari hasil perhitungan yang telah dilakukan (lampiran 2), diketahui $t_{hitung} > t_{tabel}$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima, hal ini berarti terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren dan persamaan regresi linear kurva standar, sehingga layak digunakan untuk menentukan konsentrasi DDT dalam sampel.

4.4 Proses dan Hasil Biodegradasi

4.4.1 Biodegradasi DDT oleh *Pleurotus eryngii*

Kultur *P. eryngii* yang telah dipreinkubasi ditambahkan DDT sebanyak 50 μL dari DDT 5 mM yang dilarutkan dalam dimetil sulfoksida (DMSO). DMSO digunakan karena dapat meningkatkan kelarutan DDT dalam air. DDT merupakan

senyawa organik non polar yang memiliki berat jenis yang tinggi, sehingga kelarutannya dalam air relatif kecil (Ashari, 2014). Selanjutnya kultur tersebut ditambahkan 10 mL PDB hingga volume total kultur 20 mL. Setelah itu, sebelum kultur diberi oksigen hingga jenuh sebelum diinkubasi. Tujuan dari pemberian oksigen selama proses degradasi berlangsung adalah sebagai cadangan oksigen karena jamur *P. eryngii* merupakan jamur aerobik. Selanjutnya labu ditutup dengan penyumbat kaca dan diselotip untuk mencegah kontaminasi dari mikroorganisme lain. Kultur kemudian digoyang beberapa detik untuk meratakan sebaran DDT dalam kultur. Setelah itu kultur diinkubasi statis pada suhu 25°C selama 7 hari.

Recovery DDT kemudian dilakukan untuk mendapatkan kembali DDT yang tersisa dalam kultur setelah proses inkubasi. Sebelum proses *recovery* dilakukan, proses degradasi oleh jamur harus dihentikan dengan cara mematikan kultur jamur yang ada, hal ini dapat dilakukan dengan cara menambahkan metanol. Selain itu, senyawa internal standart (senyawa referen) juga harus ditambahkan terlebih dahulu. Senyawa referen yang digunakan adalah piren.

Kultur jamur yang telah mati kemudian dipindahkan kedalam tabung falcon yang telah dicuci dengan menggunakan aseton. Tabung erlenmeyer yang digunakan sebagai wadah pada proses inkubasi dibilas dengan 5 mL aseton sebanyak 2 kali dan dimasukkan kedalam falcon. Tujuan dari pembilasan erlenmeyer menggunakan aseton adalah untuk melarutkan senyawa polar dan non polar yang masih tertinggal didalamnya. Kultur jamur dihomogenisasi agar DDT yang masih terperangkap di dalam miselium dapat terbebas. Kemudian dilakukan sentrifuge pada kultur jamur selama 7 menit untuk memisahkan biomassa jamur dengan supernatan. Biomassa yang mengendap kemudian disaring. Biomassa tersebut dikeringkan dan ditimbang. Supernatan yang didapatkan kemudian dimasukkan kedalam labu bundar yang selanjutnya dilakukan evaporasi dengan suhu 64°C untuk menghilangkan metanol sehingga yang didapatkan adalah media dan DDT. Setelah dievaporasi, supernatan tersebut

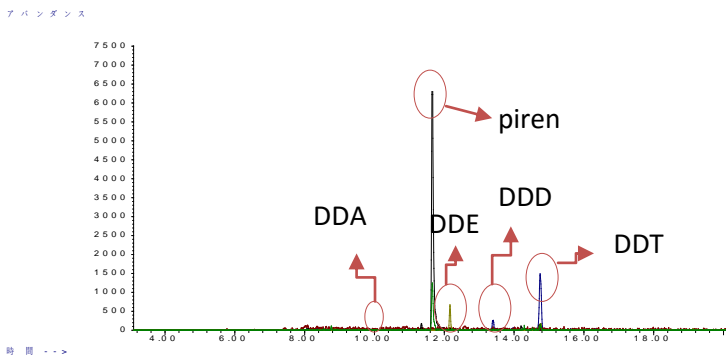
kemudian dimasukkan kedalam corong pisah untuk dilakukan ekstraksi.

Dalam proses recovery DDT dan metabolit produk degradasi menggunakan metode pemisahan ekstraksi cair-cair, dimana berarti pemisahan menggunakan komponen pelarut dalam fase cair sebagai pemisah. Metode pemisahan ini berdasarkan prinsip perbedaan kelarutan komponen terlarut/solute dengan komponen pelarut/solven dan cairan pembawa/diluen. Pada ekstraksi cair-cair didapatkan 2 fase cairan, yaitu fase rafinat atau fase residu yang mengandung diluen dan sisa solut serta fase ekstrak yang mengandung solut dan solven. Dalam penelitian ini digunakan pasangan pelarut air dan n-heksana. Syarat dari pemilihan pelarut untuk ekstraksi cair-cair yaitu: kedua pelarut tidak saling larut, tidak saling bereaksi, memiliki titik didih relatif rendah, tidak bersifat racun, memiliki perbedaan densitas yang tinggi, tidak bereaksi dengan solute atau diluent, memiliki perbedaan titik didih yang jauh dengan solute, pelarut pertama mampu melarutkan diluent dan pelarut kedua mampu melarutkan solute (Rohman, 2009). Penggunaan aquades sebagai pelarut pertama, dikarenakan air termasuk pelarut polar dengan polaritas yang tinggi (konstanta dielektrik = 80), densitas sebesar 1 g/mL, serta tidak larut pada kebanyakan pelarut organik. Air juga memiliki kelarutan yang kecil didalam DDT yaitu 1 $\mu\text{g/L}$, alasan lain dari pemilihan air, karena mampu melarutkan diluent. n-heksana dipilih sebagai pelarut kedua, karena senyawa ini termasuk pelarut non-polar dengan polaritas rendah (konstanta dielektrik = 2), densitas sebesar 0,655 g/mL dan DDT dapat terlarut pada n heksan sebesar 97 g/100 mL.

Sampel hasil evaporasi diekstraksi dengan aquades dan n-heksana dalam corong pisah, dikocok beberapa kali dengan tangan lalu dibuka kran corong pisah, hal ini untuk mengeluarkan uap bertekanan n-heksana yang terbentuk. Pelarut air dan n-heksana sangat efektif dan efisien digunakan dalam ekstraksi DDT karena dari hasil perhitungan, diketahui pasangan pelarut ini memiliki koefisien distribusi (KD) DDT antara n-heksana dan aquades sebesar $38,8 \times 10^6$. Selanjutnya dilakukan pengocokan

selama 10 – 15 menit menggunakan *autosacker* untuk mengkondisikan pelarut dapat saling kontak, sehingga zat terlarut dapat terekstrak pada fasa organik. Fasa air dari hasil ekstraksi, diekstraksi kembali dengan n-heksana baru untuk memaksimalkan hasil *recovery* serta memastikan bahwa tidak ada DDT dan metabolit produk yang tertinggal dalam fasa air. Sedangkan fasa organik yang diperoleh dari proses ekstraksi pertama maupun yang kedua dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi Na_2SO_4 anhidrat sebagai agen pengering (*drying agent*) dalam larutan fase organik, senyawa ini dapat mengikat senyawa polar seperti air dan alkohol. Cara paling sederhana untuk mengetahui apakah zat organik telah bebas molekul air adalah dengan menggoyang wadah, natrium sulfat yang telah menggumpal sehingga tidak bisa bergerak merupakan Na_2SO_4 yang telah mengikat molekul air, namun jika masih terdapat Natrium sulfat yang bergerak pada dasar wadah, maka semua molekul air telah terikat pada natrium sulfat, yang berarti zat organik telah bebas dari molekul air. Sampel yang telah bebas molekul air dievaporasi hingga tersisa sekitar 5 mL. Evaporasi dilakukan untuk menguapkan n-heksana serta meningkatkan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga hasil analisis relatif lebih baik. Analisis pertama dengan menggunakan GC/MS. Sampel yang masih tersisa dievaporasi kembali sampai kering, kemudian ditambah 2 mL metanol untuk dianalisis menggunakan HPLC.

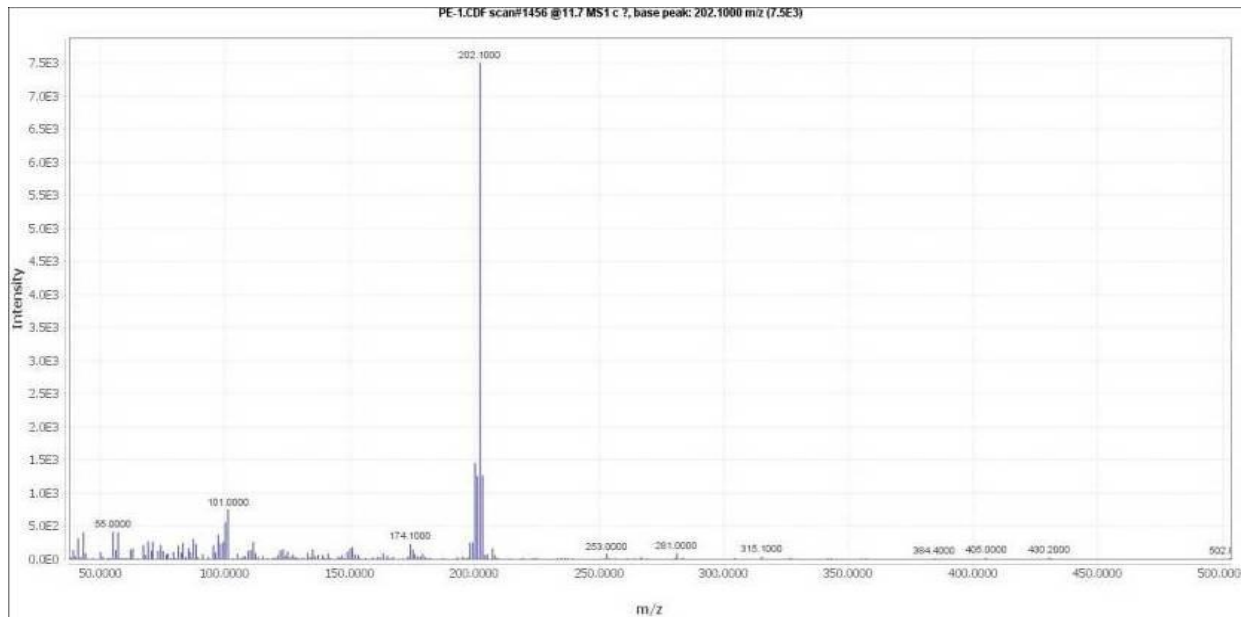
Hasil analisis degradasi DDT oleh *P. eryngii* menggunakan HPLC menghasilkan data presentasi DDT pada kultur kontrol dan perlakuan. Pada sampel kontrol, terdeteksi DDT sebesar 96,7%. DDT yang diperoleh pada kultur sampel perlakuan yang telah diinkubasi statis selama 7 hari adalah 53,49% sehingga dapat diketahui bahwa jamur *P. eryngii* dapat mendegradasi DDT sebesar 43,21%. Data tersebut merupakan rata-rata dari dua kali pengukuran ($n=2$).



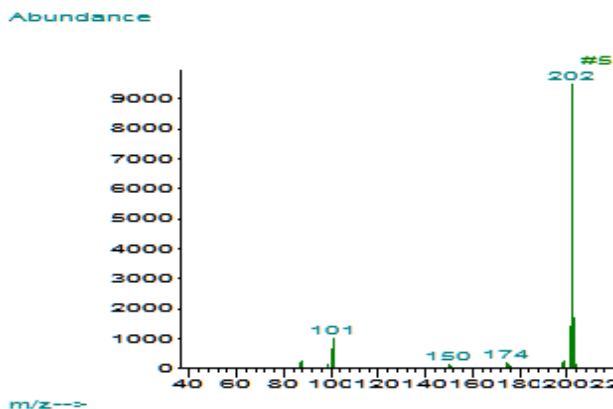
Gambar 4.5 Kromatogram GC degradasi DDT oleh jamur *P. eryngii*

Hasil analisis kromatogram GC sampel degradasi DDT oleh jamur pada gambar 4.5 mendeteksi beberapa senyawa antara lain piren dan DDT serta beberapa metabolit produk seperti DDE, DDD, dan DDA. Identifikasi senyawa piren serta beberapa metabolit produk berdasarkan pada spektra MS yang memiliki pola pemecahan molekul dengan tingkat kemiripan yang tinggi dengan pola pemecahan molekul piren dan DDT serta beberapa metabolit produk seperti DDE, DDD, DDA yang ada dalam database. Selanjutnya dilakukan pencocokkan M^+ dan m/z yang diperoleh pada spektra MS hasil analisis dengan spektra MS database sehingga dapat diketahui tingkat kemiripannya senyawa-senyawa tersebut serta mengurangi kesalahan dalam identifikasi senyawa.

Piren memiliki nilai M^+ sebesar 202 dan nilai m/z 202 (base peak), 174, 150, dan 101 berdasarkan spektra MS piren dalam database yang ditunjukkan pada gambar 4.7. Nilai tersebut sesuai dengan spektra MS piren analisis sampel degradasi DDT oleh Jamur *P. eryngii* yang ditunjukkan pada gambar 4.6 sehingga dapat diketahui tingkat kemiripannya.

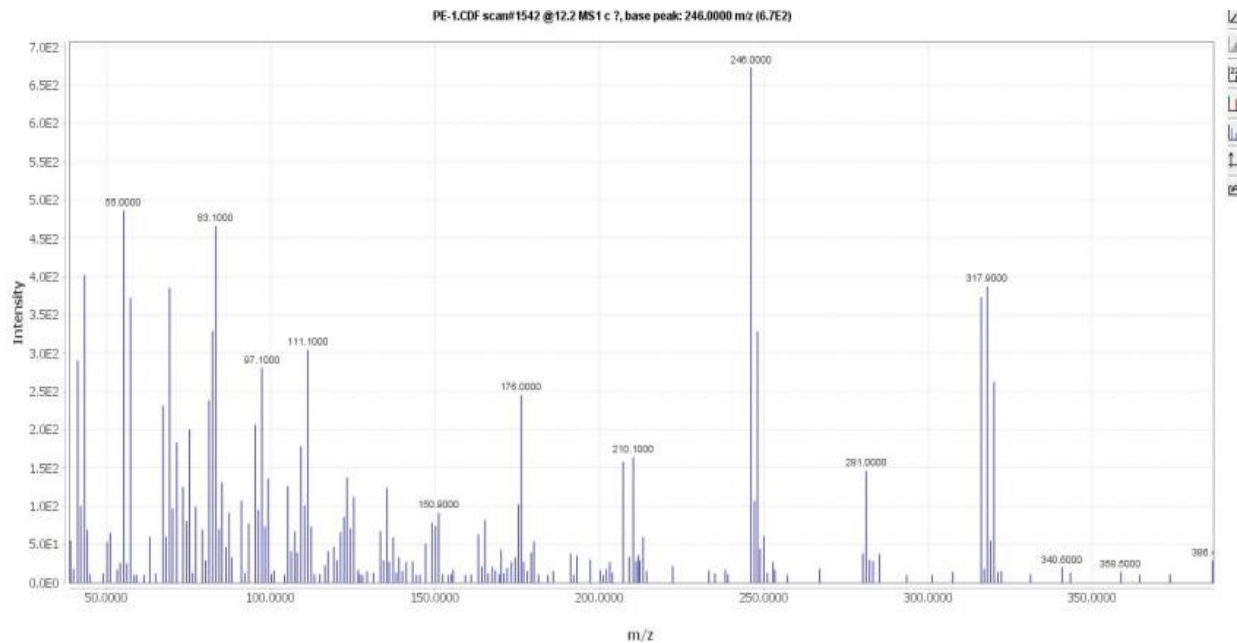


Gambar 4.6. Spektra MS piren hasil analisis degradasi DDT oleh sampel Jamur *P. eryngii*

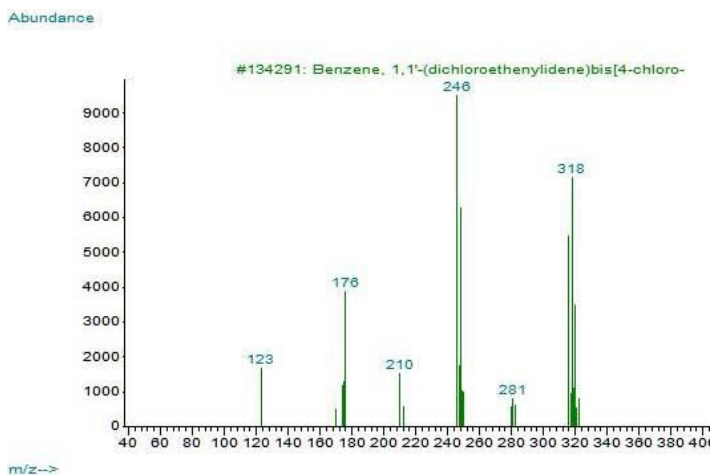


Gambar 4.7. Spektra MS piren dalam database

DDE merupakan senyawa turunan dari DDT yang memiliki nilai m/z 316, 246 (base peak), 210, 176, dan 123 berdasarkan spektra MS DDE dalam database yang ditunjukan pada gambar 4.9. Nilai tersebut sesuai dengan spektra MS DDE analisis sampel degradasi DDT oleh Jamur *P. eryngii* yang ditunjukan pada gambar 4.8 sehingga dapat diketahui tingkat kemiripannya.

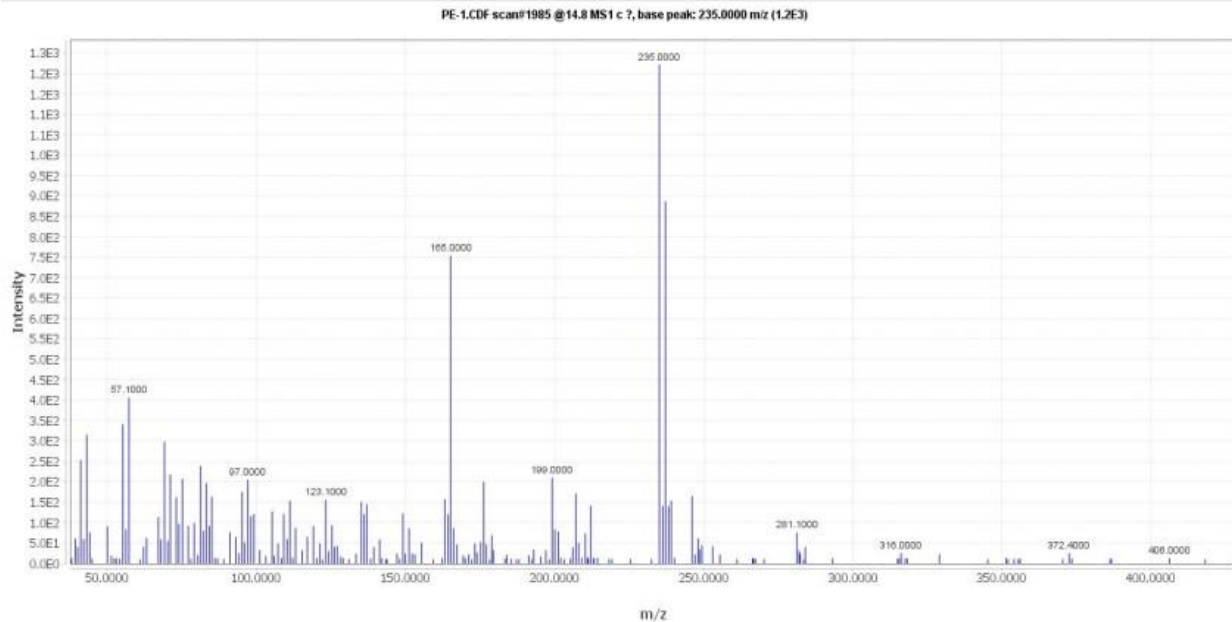


Gambar 4.8. Spektra MS DDE hasil analisis degradasi DDT oleh sampel Jamur *P. eryngii*

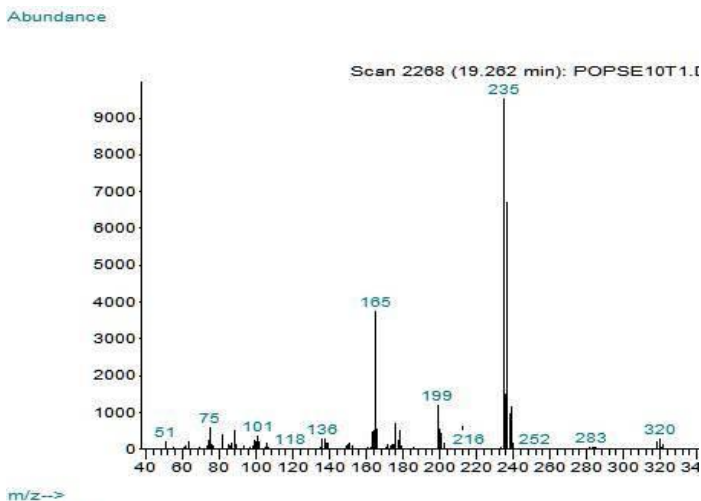


Gambar 4.9. Spektra MS DDE dalam database

DDD merupakan senyawa turunan dari DDT yang memiliki nilai m/z 318, 235 (base peak), 199, dan 165 berdasarkan spektra MS DDD dalam database yang ditunjukan pada gambar 4.11. Nilai tersebut sesuai dengan spektra MS DDD analisis sampel degradasi DDT oleh Jamur *P. eryngii* yang ditunjukan pada gambar 4.10 sehingga dapat diketahui tingkat kemiripannya



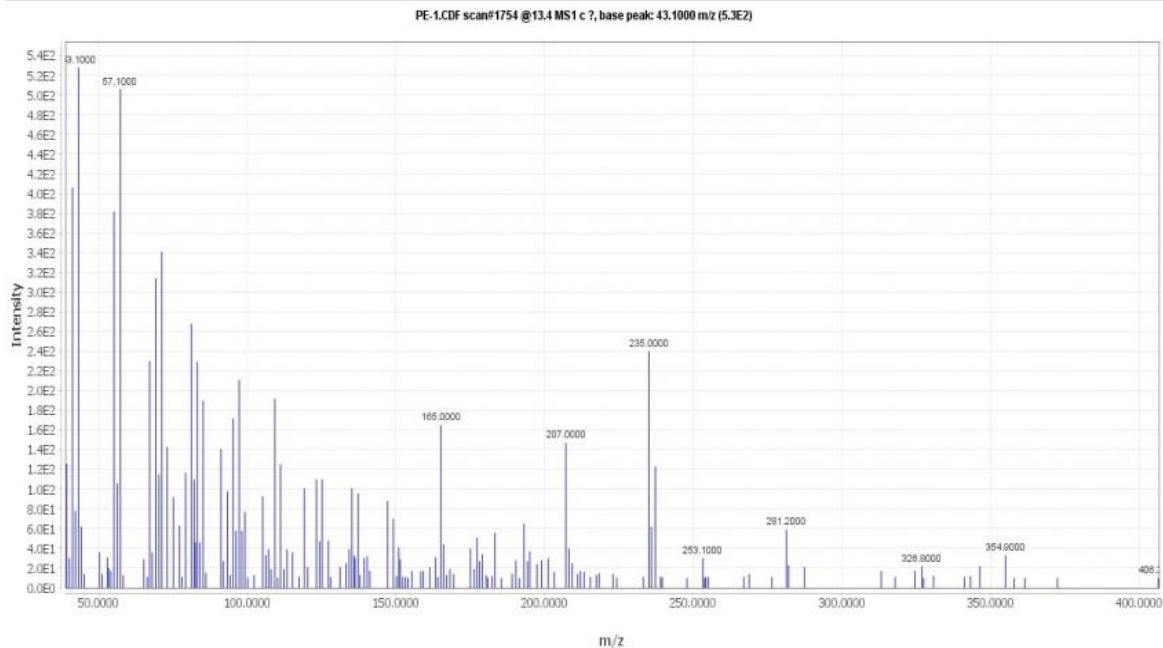
Gambar 4.10. Spektra MS DDD hasil analisis degradasi DDT oleh sampel Jamur *P. eryngii*



Gambar 4.11. Spektra MS DDA dalam database

DDA merupakan senyawa turunan dari DDT yang memiliki nilai m/z 281, 235 (base peak), 207, 191 dan 165 berdasarkan spektra MS DDA analisis sampel degradasi DDT oleh Jamur *P. eryngii* yang ditunjukkan pada gambar 4.12.

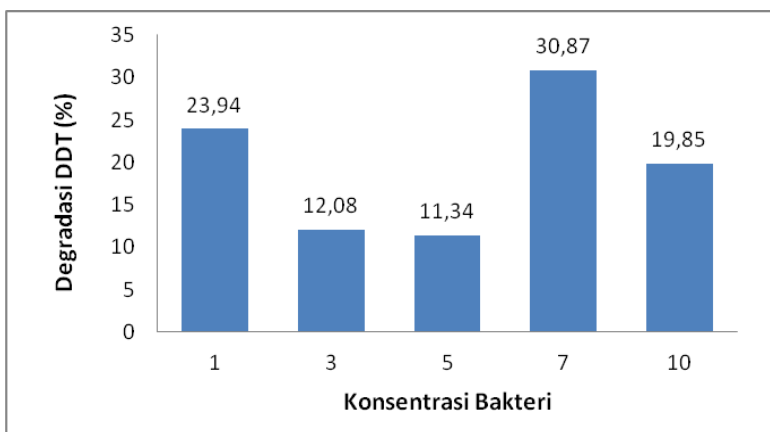
Jamur pelapuk putih secara umum telah dikenal memiliki sistem enzim pendegradasi lignin (lignin peroksidase, mangan peroksidase, dan lakase) dengan kadar masing-masing enzim yang berbeda diantara jenis jamur pelapuk putih yang lain. Oleh karena itu metabolit produk dalam penelitian ini dapat dipastikan adalah hasil dari aktivitas enzim pendegradasi lignin yang mengkatalisis oksidasi DDT walaupun mekanisme katalisis dan jalur degradasi DDT oleh enzim pendegradasi lignin belum dapat diketahui secara jelas.



Gambar 4.12 Spektra MS DDA hasil analisis degradasi DDT oleh sampel Jamur *P. eryngii*

4.4.2. Biodegradasi DDT Oleh *Ralstonia pickettii*

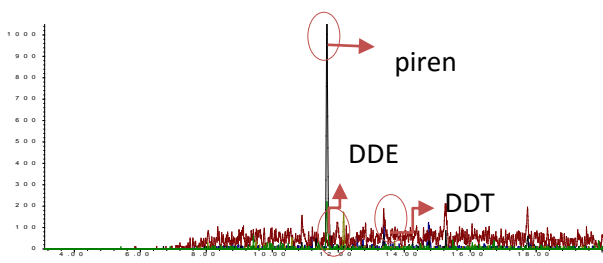
Pada biodegradasi DDT oleh *R. pickettii* dilakukan beberapa perlakuan. Kultur bakteri yang telah melalui pre-inkubasi diambil sebanyak 1, 3, 5, 7 dan 10 mL ($1 \text{ mL} \approx 1,337 \times 10^9 \text{ sel/mL}$ kultur) dan masing-masing ditempatkan kedalam erlenmeyer yang berisi 10 mL PDB, kemudian ditambahkan DDT 50 μL dari DDT 5mM dalam DMSO dan ditambahkan media PDB hingga volume total menjadi 20 mL. Saat inkubasi perlu ditambahkan oksigen sebagai cadangan oksigen selama proses degradasi berlangsung karena *R. pickettii* merupakan bakteri aerobik yang membutuhkan oksigen dalam proses metabolismenya. Selama proses inkubasi tabung erlenmeyer yang digunakan ditutup dengan penyumbat kaca dan diselotip. Kultur kemudian digoyang beberapa detik untuk meratakan sebaran DDT dalam kultur. Setelah itu kultur diinkubasi statis pada suhu 25°C selama 7 hari. Suhu tersebut merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan jamur ini. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi DDT dalam kultur untuk mengetahui hasil degradasinya seperti pada pembahasan sub bab 4.4.1. Hasil analisis degradasi DDT oleh *R. pickettii* dengan instrumen HPLC ditampilkan pada gambar 4.13



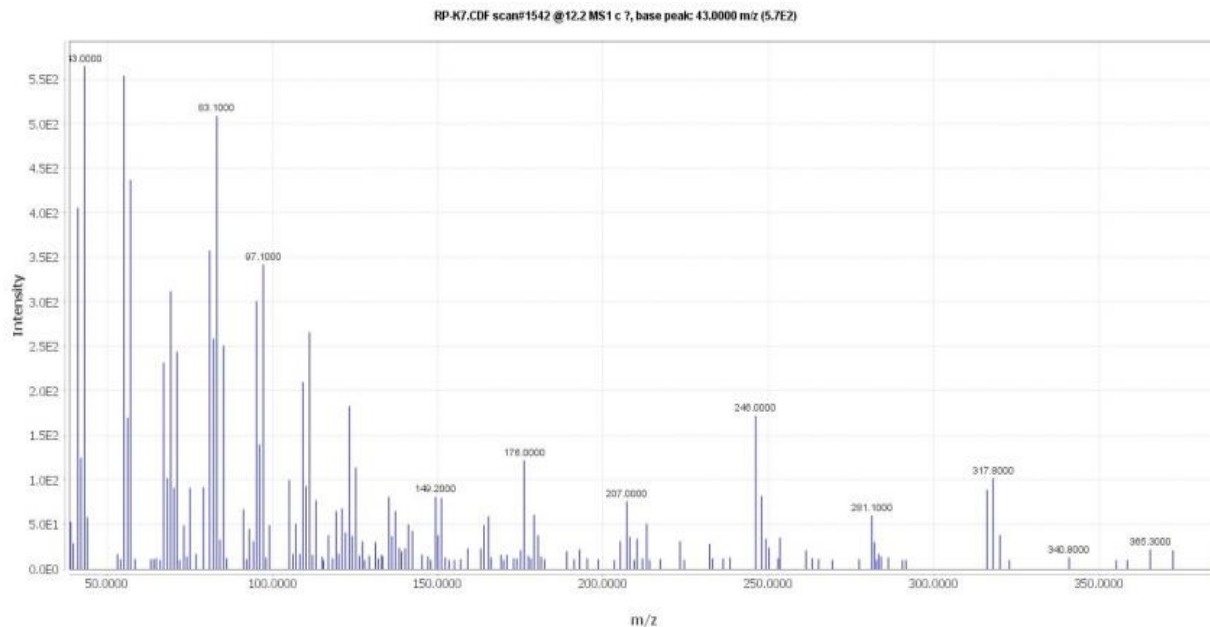
Gambar 4.13 Jumlah degradasi DDT oleh *R. pickettii*

Berdasarkan Gambar 4.13 dapat diketahui konsentrasi optimum bakteri dalam degradasi DDT adalah 7 ml setelah diinkubasi 7 hari dengan presentasi degradasi sebesar 30,87%.

Pada hasil analisis kromatogram GC sampel degradasi DDT oleh bakteri (gambar 4.14) diketahui bahwa *R. pickettii* menghasilkan DDE sebagai metabolit produk utama berdasarkan kemiripan hasil spektra MS analisis (gambar 4.15) dengan spektra MS pada database yang telah ditunjukkan pada gambar 4.9. Hal ini sesuai dengan Lal dan Saxena (1982) yang menyatakan bahwa secara umum bakteri yang diinkubasi secara aerob akan mendegradasi DDT melalui reaksi dehidroklorinasi dengan metabolit produk berupa DDE.



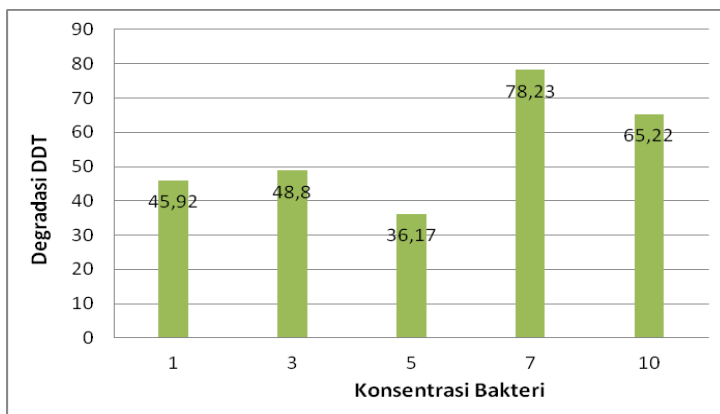
Gambar 4.14 Kromatogram GC hasil analisis degradasi DDT oleh bakteri *R. pickettii*



Gambar 4.15 Spektra MS DDE hasil analisis degradasi DDT oleh sampel bakteri *R. pickettii*

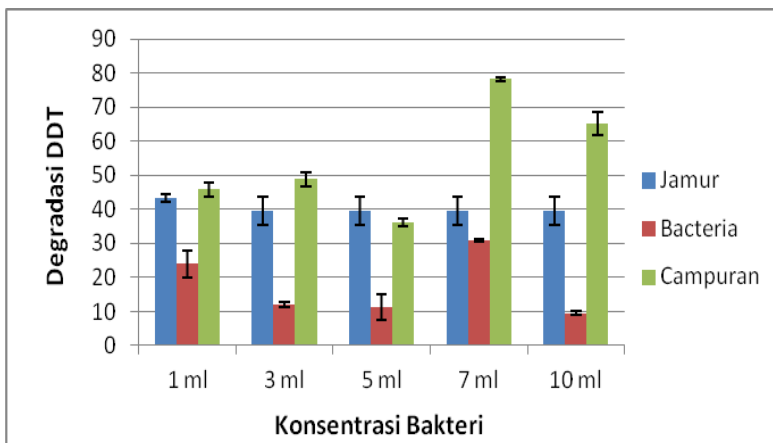
4.4.3. Optimasi Biodegradasi DDT Oleh *Pleurotus eryngii* dengan Penambahan *Ralstonia pickettii*

Kultur *P. eryngii* yang telah dipre-inkubasi ditambahkan bakteri *R. pickettii* masing-masing 1, 3, 5, 7, dan 10 mL, kemudian ditambahkan DDT sebanyak 50 μ L 5 mM dalam dimetil sulfoksida (DMSO) dan media PDB hingga volume total menjadi 20 mL. Sebelum diinkubasi, tabung kultur dialiri oksigen terlebih dahulu, lalu ditutup dengan penyumbat kaca dan diselotip. Kultur kemudian digoyang beberapa detik untuk meratakan sebaran DDT dalam kultur. Sebagai kontrol, kultur diautoclave sebelum ditambahkan DDT. Kontrol digunakan sebagai pembandingan antara kultur yang telah steril dengan kultur yang masih terdapat agen pendegradasi yaitu *P. eryngii* dan *R. pickettii* (kultur *treatment*), sehingga dapat ditentukan penurunan jumlah DDT pada kultur. Kemudian kultur diinkubasi statis pada suhu 25°C selama 7 hari. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan proses ekstraksi DDT pada sampel dengan langkah seperti pada subbab 4.4.1. Jumlah degradasi DDT oleh *P. eryngii* dengan penambahan bakteri *R. pickettii* dengan waktu inkubasi selama 7 hari dapat dilihat pada gambar 4.16.



Gambar 4.16 Jumlah degradasi DDT oleh *P. eryngii* dengan penambahan bakteri *R. pickettii* dengan waktu inkubasi selama 7 hari

Dari data gambar 4.13, gambar 4.16 dan data degradasi Jamur *P. eryngii* dapat dibuat grafik seperti dibawah ini

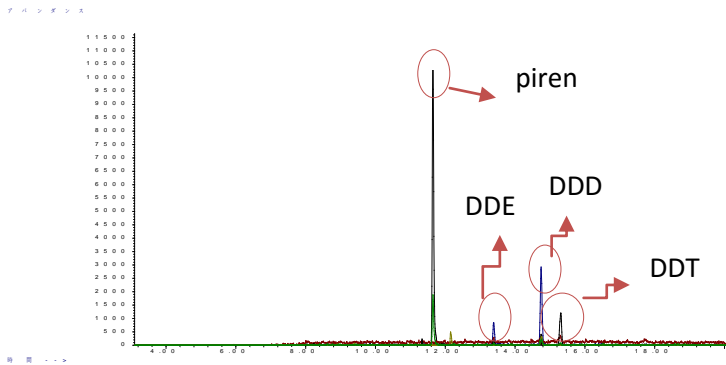


Gambar 4.17 Grafik Degradasi DDT oleh *P. eryngii* dengan Penambahan Bakteri *R. pickettii*

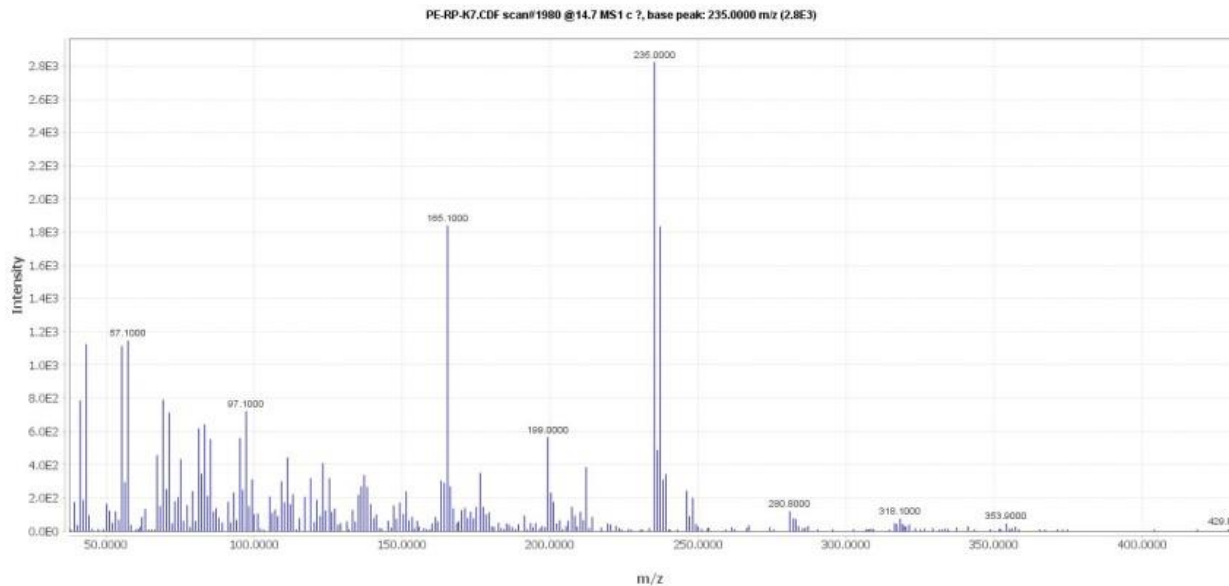
Berdasarkan grafik 4.17 diatas dapat diketahui bahwa penambahan *R. pickettii* dalam kultur *P. eryngii* memiliki pengaruh terhadap degradasi DDT. Jumlah degradasi DDT oleh *P. eryngii* yang telah ditambahkan *R. pickettii* memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan *P. eryngii* tanpa penambahan *R. pickettii*. Peningkatan tersebut dikarenakan *R. pickettii* memproduksi biosurfaktan yang dapat meningkatkan kelarutan DDT dalam media kultur. Hal tersebut terjadi karena biosurfaktan merupakan senyawa aktif yang dapat menurunkan tegangan permukaan sehingga DDT dapat terdegradasi.

Dari gambar 4.17 juga dapat diketahui penambahan bakteri *R. pickettii* 7 mL pada kultur *P. eryngii* merupakan hasil yang paling optimal dalam proses degradasi DDT dengan hasil degradasi sebesar 78,23 %. Pada penambahan bakteri, kemampuan jamur dalam mendegradasi DDT mengalami 2 kali lipat sehingga jamur dan bakteri dapat bersinergi dalam mendegradasi DDT.

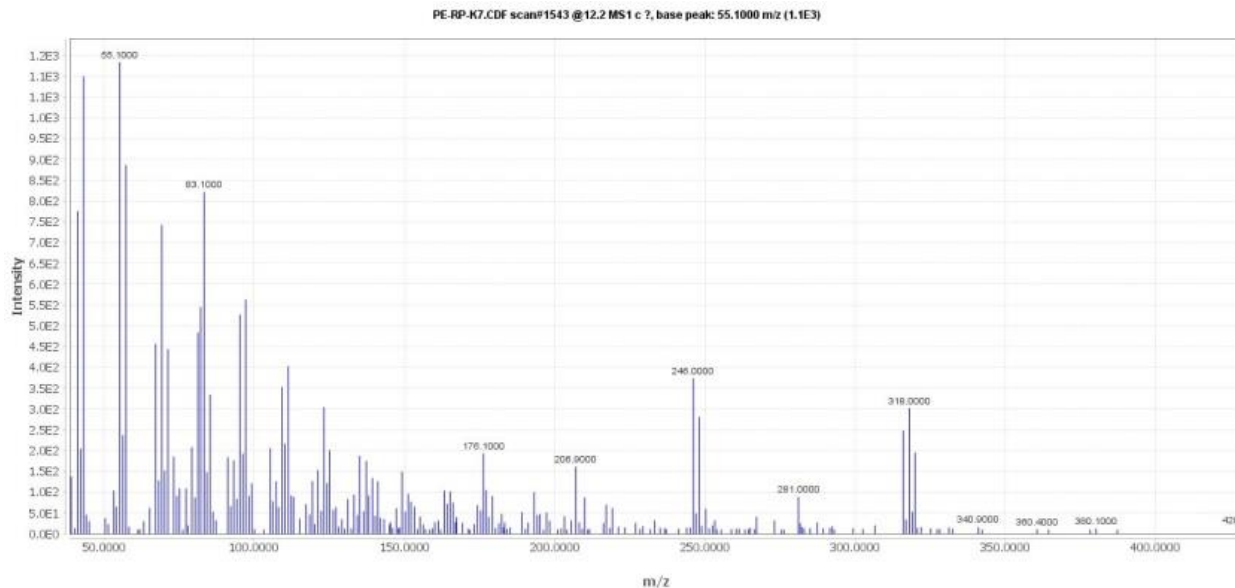
Hasil analisis kromatogram GC degradasi DDT oleh jamur dan bakteri (gambar 4.18) diketahui bahwa kultur *P. eryngii* dengan penambahan *R. pickettii* dapat mendegradasi DDT dengan menghasilkan metabolit antara lain DDE dan DDD berdasarkan hasil spektra MS analisis (gambar 4.19 dan gambar 4.20) yang cocok dengan hasil spektra MS database pada gambar 4.9 dan 4.11.



Gambar 4.18 Kromatogram GC hasil analisis degradasi DDT oleh Jamur *P. eryngii* dan Bakteri *R. pickettii*



Gambar 4.19 Spektra MS DDD hasil analisis degradasi DDT oleh Jamur *P. eryngii* dan Bakteri *R. pickettii*

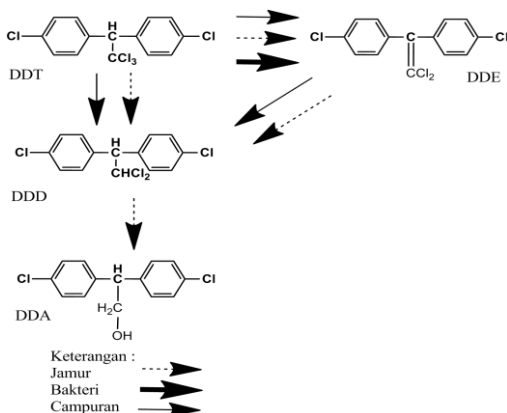


Gambar 4.20 Spektra MS DDE hasil analisis degradasi DDT oleh Jamur *P. eryngii* dan Bakteri *R. pickettii*

4.4.4 Jalur Degradasi

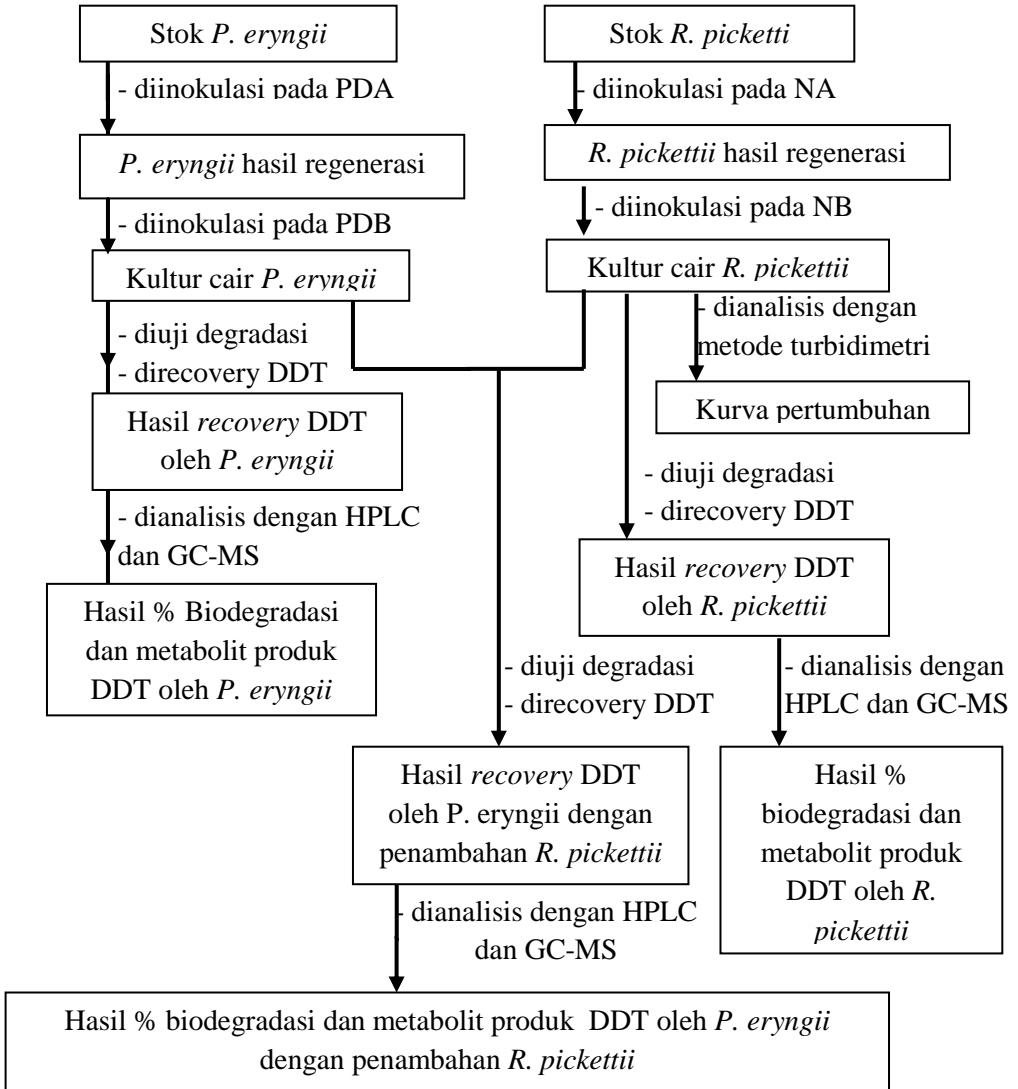
Dalam penelitian ini diperoleh beberapa metabolit produk dari hasil degradasi DDT pada masing-masing kultur. Pada degradasi DDT oleh bakteri *R. picketti* diperoleh metabolit produk berupa DDE. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Wedemeyer dan Alexander (1997) menunjukkan bahwa biodegradasi DDT dan metabolit DDT terjadi pada beberapa bakteri. DDT secara umum diubah menjadi DDE.

Pada degradasi DDT oleh jamur *P. eryngii* didapatkan metabolik produk berupa DDE, DDD dan DDA, sedangkan pada degradasi DDT oleh campuran bakteri *R. picketti* dengan jamur *P. eryngii* diperoleh metabolit produk berupa DDE dan DDD. Dari data tersebut dapat dibuat kemungkinan jalur degradasi seperti gambar 4.21. Penelitian tersebut juga sesuai dengan penelitian Subba-rao dan Alexander (1997) telah menunjukkan bahwa jalur degradasi DDT untuk beberapa fungi yang telah dipelajarinya hampir sama dengan jalur utama degradasi oleh bakteri (Bumpus, 1987).



Gambar 4.21 Jalur degradasi DDT oleh *P. eryngii*, *R. picketti* dan campuran keduanya.

LAMPIRAN 1 SKEMA KERJA



LAMPIRAN 2 PERHITUNGAN

1. Pembuatan larutan DDT 5 mM dalam 50 ml DMSO

$$\begin{aligned}n &= M \cdot V \\&= 5 \times 10^{-3} \text{ M} \cdot 0,05 \text{ L} \\&= 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Massa} &= n \cdot M_r \\&= 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot 354,49 \text{ g/mol} \\&= 0,0886225 \text{ g DDT}\end{aligned}$$

2. Pembuatan larutan piren 5 mM dalam 50 ml DMSO

$$\begin{aligned}n &= M \cdot V \\&= 5 \times 10^{-3} \text{ M} \cdot 0,05 \text{ L} \\&= 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Massa} &= n \cdot M_r \\&= 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot 202,25 \text{ g/mol} \\&= 0,0505625 \text{ g Piren}\end{aligned}$$

3. Uji signifikansi koefisien korelasi (uji t)

X_i	Y_i	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$	$(Y_i - \bar{Y})$	$(Y_i - \bar{Y})^2$	$(X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})$
0	0	-50	2500	-0,202	0,041	10,11
25	0,104	-25	625	-0,098	0,009	2,455
50	0,219	0	0	0,017	0,000	0
75	0,301	25	625	0,099	0,009	2,47
100	0,387	50	2500	0,185	0,034	9,24
$\bar{X} =$ 50	$\bar{Y} =$ 0,202		$\Sigma = 6250$		$\Sigma = 0,095$	$\Sigma = 24,275$

$$\begin{aligned}
 r &= \frac{\sum [(X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})]}{\sqrt{\sum [(X_i - \bar{X})^2 (Y_i - \bar{Y})^2]}} \\
 &= \frac{24,275}{\sqrt{(6250)(0,095)}} \\
 &= 0,998
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 t_{hitung} &= \frac{r\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \\
 &= \frac{0,998\sqrt{5-2}}{\sqrt{1-0,998^2}} \\
 &= 25,392 \quad (t_{tabel} = 3,182)
 \end{aligned}$$

H_0 diterima, jika $t_{hitung} < t_{tabel}$

H_0 ditolak, jika $t_{hitung} > t_{tabel}$

Karena $t_{hitung} > t_{tabel}$, maka H_0 ditolak

4. Contoh Perhitungan Persen *Recovery*

Data analisis sampel kontrol (bakteri 1 mL)

Luas Puncak Piren	Luas Puncak DDT	Perbandingan Luas Puncak DDT/Piren	<i>Recovery</i>
5684,99	2139,81	0,3764 (0,38)	94,10
5846,27	2153,19	0,3683 (0,37)	92,08

*Analisis menggunakan HPLC

Persamaan regresi linear kurva standar DDT

$$y = 0,004 x$$

$$0,3764 = 0,004 x$$

$$\frac{0,3764}{0,004}$$

$$x = 94,10$$

$$x = 94,10$$

Dimana : y = Perbandingan
luas area puncak DDT/piren

x = Persen

recovery

LAMPIRAN 3 DATA ANALISIS SAMPEL

Tabel 1. Data analisis sampel pada Jamur *P. eryngii*

Kons. Bakteri (mL)	n	Piren	DDT	DDT/ Piren	Recovery	Rata-rata	SD	Degradasi
0	C1	76994,95	29698,65	0,39	96,43	96,70	0,38	-
	C2	74100,91	28740,36	0,39	96,96			
1	T1	13280,61	2797,06	0,21	52,65	53,49	1,18	43,21
	T2	14416,07	3132,57	0,22	54,32			

Tabel 2. Data Analisa Sampel pada Bakteri *R. pickettii*

Kons. Bakteri (mL)	n	Piren	DDT	DDT/ Piren	Recovery	Rata-rata	SD	Degradasi
0	C1	76994,95	29698,65	0,39	96,43	96,70	0,38	-
	C2	74100,91	28740,36	0,39	96,96			
1	T1	15021,45	4198,8	0,28	69,88	72,76	4,07	23,94
	T2	15374,11	4651,54	0,30	75,64			
3	T1	14776,09	4964,6	0,34	84,00	84,62	0,88	12,08
	T2	14919,79	5087,19	0,34	85,24			
5	T1	8210,44	2715,12	0,33	82,67	85,36	3,80	11,34
	T2	8707,32	3066,57	0,35	88,05			
7	T1	8936,46	2366,16	0,26	66,19	65,83	0,52	30,87
	T2	8991,7	2354,26	0,26	65,46			
10	T1	9762,26	3017,55	0,31	77,28	76,85	0,60	19,85
	T2	7937,07	2426,63	0,31	76,43			

Tabel 3. Data Analisa Sampel pada Kombinasi Bakteri *R. pickettii* dengan Jamur *P. eryngii*

Kons. Bakteri (mL)	n	Piren	DDT	DDT/Piren	Recovery	Rata-rata	SD	Degradasi
0	C1	76994,95	29698,65	0,39	96,43	96,70	0,38	-
	C2	74100,91	28740,36	0,39	96,96			
1	T1	6106,65	1275,98	0,21	52,24	50,78	2,06	45,92
	T2	11208,65	2211,11	0,20	49,32			
3	T1	6285,32	1167,22	0,19	46,43	47,89	2,07	48,80
	T2	11205,68	2212,35	0,20	49,36			
5	T1	12694,99	3111,3	0,25	61,27	60,52	1,06	36,17
	T2	17921	4284,89	0,24	59,77			
7	T1	5052,5	381,72	0,08	18,89	18,46	0,60	78,23
	T2	12159,95	877,31	0,07	18,04			
10	T1	3787,45	440,5	0,12	29,08	31,47	3,39	65,22
	T2	15449,7	2093,31	0,14	33,87			

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa penambahan bakteri *R. picketti* dapat meningkatkan hasil degradasi DDT oleh *P. eryngii*. Konsentrasi bakteri *R. picketti* yang sesuai untuk optimasi degradasi DDT oleh *P. eryngii* adalah 7 mL dengan hasil degradasi DDT yaitu 78,23 %. Metabolik produk yang dihasilkan pada degradasi DDT oleh *P. eryngii* adalah DDE, DDD dan DDA. Metabolik produk yang dihasilkan pada degradasi DDT oleh *R. pickettii* adalah DDE. Metabolik produk yang dihasilkan pada degradasi DDT oleh *P. eryngii* dengan penambahan *R. pickettii* adalah DDE dan DDD.

5.2 Saran

Diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan karakterisasi yang lebih lengkap untuk mengkonfirmasi metabolit produk yang terbentuk sehingga dapat menentukan jalur degradasi yang lebih rinci.

DAFTAR PUSTAKA

- A. Shafaati dan B.J.Clark.J Pharm. Biomed. (1996) *Analytical Chemistry, Sixth*. John Wiley & Sons Inc. New York.
- A. Suwanto. (1998) *Bioteknologi molekuler: Mengoptimalkan manfaat keanekaan hayati melalui teknologi DNA rekombinan (in Indonesian)*. IPB. Bogor.
- Adley C, Pembroke J, Ryan M. (2007) *Ralstonia pickettii potensi bioteknologi lingkungan dan aplikasi*. Journal of Applied Microbiolgy. Vol 103.
- Alexader, M. (1977). *Introduction to Soil Microbiology Second Edition*. John Wiley. New york.
- Ashari, Khoirul (2014). *Pengaruh Penambahan Pseudomonas aeruginosa Terhadap Biodegradasi DDT Oleh Pleurotus ostreatus*. FMIPA ITS. Surabaya.
- Bumpus, A. J. dan Steven D. Aust. (1987). *Biodegradation Of DDT [1,1,1-Trichloro-2,2-Bis(4-Chlorophenyl) Ethane] by the White Rot Fungus Phanerochaete Chrysosporium*. Aplied and Environmental Microbiology Journal. Volume 5. No. 9. p. 2001-1008.
- Cookson, J.T. (1995). *Bioremidition Engineering : Design dan Appllication*. Mc Graw – Hill . Inc . New York.
- Dachriyanus, Dr. (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Andalas University Press. Padang.
- Day, R.A, dan Underwood A.L. (1986). *Analisis Kimia Kuantitatif, Edisi Kelima*. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Fowlis, Ian A. (1998). *Gas Chromatography Analytical Chemistry by Open Learning*. John Wiley & Sons Ltd. Chichester.

- Gandjar, Indrawati, dkk. (2006). *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Gandahusada, Srisasi, dkk. (1996). *Parasitologi Kedokteran*. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta.
- Laba I Wayan. (2010). *Analisis Empiris Penggunaan Insektisida Menuju Pertanian Berkelanjutan*. Naskah disarikan dari bahan Orasi Profesor Riset. Bogor.
- Lal, R. dan Saxena , D. M. (1982). *Accumulation, metabolism, and effects of organochlorine insecticides on microorganisms*. Microbiological review 46, 95.
- Kannan, K., Tanabe, S., Tatsukawa, R.. (1995). *Geographical distribution and accumulation features of organochlorine residues in fish in tropical Asia and Oceania*. Environ. Sci. Technol. 29, 2673–2683.
- Kusnadi dkk. (2012). *Buku Common text mikrobiologi*. Universitas Pendidikan Indonesia. Jakarta.
- M. Arisoy. (1998). *Biodegradation of Chlorinated Organic Compounds by White-Rot Fungi*. Department of Basic Health Science, Faculty of Health Educatio., University of Ankara. Türkiye.
- Mayasari, Evita. (2005). *Pseudomonas aeruginosa; Karakteristik, Injeksi dan Penanganan*. Departemen Microbiology Fakultas Kedokteran USU. Medan.
- Miglioranza, Karina SB; de Moreno, Julia E. Aizpun; de Moreno, Victor J. (2002). *Dynamics of Organochlorine Pesticides in Soils From a Southeastern Region of Argentina*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol 22, pages 712-717.

- Mulja.Muhammad, Suharman. (1995). *Analisis Instrumental*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Pavia, D. L., Lampman G. M. dan Kriz G. S. (2001). *Introduction to Spectroscopy,. Third edition*. Thompson Learning Academic Resource Center. Washington.
- Pointing S. (2001). *Feasibility of bioremediation by white-rot fungi*. Applied Microbiology and Biotechnology 57, 20–33.
- Quijano dan Riza. (1999). *Pestisida Berbahaya Bagi Kesehatan*. Yayasan Duta Awam,Pesticide Action Network Asia and the Pacific, ISBN: 983-9381-11-3. Series: 983-9381-09-1.
- Sigmaaldrich. (2010). *Nutrient Agar*. Diakses 30 November 2015 dari [http// www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com).
- Skoog, Douglas A. (1985). *Principles of Instrumental Analysis 3rd edition*. Saunders College Publishing. New York.
- Sumarsih dan Sumarwoto. (2003). *Mikrobiologi Dasar*. Fakultas Pertanian UPN Veteran. Yogyakarta.
- Volk, Wesley A. dan Margaret F. W. (1993). *Mikrobiologi Dasar. Jilid 1. Edisi kelima*. Erlangga. Jakarta.
- Tarumingkeng, Rudi C. (1989). *Pengantar Toksikologi Insektisida*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- UNIDO. (1984). *Consultation on research and development for pesticide production in Indonesia. Technical Report*. United Nations Industrial Development Organization. Vienna.
- Yonidwita, Ciccliyliona D. (2012). *Pengaruh pH Terhadap Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Pseudomonas aeruginosa Lokal*. FMIPA ITS. Surabaya.

“Halaman ini sengaja dikosongkan.”

BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Banyuwangi, 16 Juni 1994 dan merupakan anak kedua dari dua bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di TK Mentari Banyuwangi, SDN 1 Kapatihan Banyuwangi, SMP Negeri 1 Banyuwangi, dan SMA 1 Glagah Banyuwangi. Penulis diterima di jurusan Kimia FMIPA melalui jalur SNMPTN undangan dan terdaftar dengan NRP 1412100022. Pada tahun kedua penulis pernah menjadi staff DAGRI HIMKA ITS. Penulis menjalani kerja praktik di PT. Kaltim Prima Coal. Penulis menyelesaikan program Sarjana dengan mengambil Skripsi dibidang Kimia Mikroorganisme dibawah bimbingan Bapak Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D. Penulis dapat dihubungi melalui nurita.dega@gmail.com.